

**UNIVERSIDAD DE CUENCA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS**  
**CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**



**“FACTORES QUE AFECTAN LA SUSCEPTIBILIDAD ANTIBIÓTICA DE  
*STAPHYLOCOCCUS AUREUS* AISLADO DE MASTITIS BOVINA”**

Tesis de Grado, previo a la  
obtención del título de Médico  
Veterinario Zootecnista

**AUTOR:** DIEGO EFRAÍN ARGUDO SUIN C.I 0105240568

**DIRECTOR:** DR. GUILLERMO SERPA GARCÍA Mg.Sc. C.I 0300552213

**CUENCA – ECUADOR**

**2017**

---

## Resumen

El objetivo de la investigación es establecer: la relación entre diferentes factores de la vaca lechera (número y tiempo de lactancia); el manejo preventivo y terapéutico de la mastitis bovina (uso de registros de mastitis y laboratorio en decisiones terapéuticas); sobre la susceptibilidad antibiótica de *Staphylococcus aureus*. Se analizaron 218 muestras de leche de las cuales 122 fueron aislados de *S. aureus* en 19 hatos ganaderos de las provincias de Azuay y Cañar. Para determinar la mastitis y la susceptibilidad antimicrobiana se realizó: test de mastitis California (CMT), cultivo microbiológico, y antibiograma con discos de sensibilidad en placa. Los antibióticos para los cuales la sensibilidad fue mayor: estreptomicina 90,98%, amoxicilina más ácido clavulánico 87,70%, penicilina 76,23%, cloxacilina 75,41% y kanamicina 71,31%; mientras que los antibióticos con resistencia trascendental fueron: eritromicina 36,07%, tetraciclina 34,43%, penicilina 23,77% y cefalexina 22,95%. Se observó un mayor riesgo de resistencia bacteriana cuando el tiempo de lactancia es prolongada; por otro lado, no existe relación del manejo preventivo y terapéutico con la formación de cepas resistentes a antibióticos.

**Palabras clave:** Mastitis, antibiograma, antibióticos, *S.aureus*.



---

## ABSTRACT

The main goal of this research project is to establish the relationship between different factors of the milking cow (lactation number and time) and the therapeutic and preventive management of Bovine Mastitis (use of mastitis and laboratory records in therapeutic decisions) on the antibiotic susceptibility of *Staphylococcus aureus*. For this purpose, 218 raw milk samples were analyzed from which 122 were isolated of *S. aureus* from 19 cattle herds in the provinces of Azuay and Cañar. In order to determine mastitis and antimicrobial susceptibility we conducted the California mastitis Test (CMT), microbiological culture, and antibiogram with plaque sensitivity discs. The antibiotics for which sensitivity was higher were streptomycin 90.98%, amoxicillin and clavulanic acid 87.70%, penicillin 76.23%, cloxacillin 75.41%, and kanamycin 71.31%. Conversely, the antibiotics with transcendental resistance were erythromycin 36.07%, tetracycline 34.43%, penicillin 23.77% and cephalexin 22.95%. An increased risk of bacterial resistance was observed when lactation time is prolonged. On the other hand, there is no relation of preventive and therapeutic management with the formation of antibiotic-resistant strains.

**Key words:** Mastitis, antibiogram, antibiotic, *S. aureus*



## ÍNDICE DE CONTENIDOS

<b>RESUMEN.....</b>	<b>1</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>2</b>
<b>ÍNDICE DE CONTENIDOS .....</b>	<b>3</b>
<b>ÍNDICE DE CUADROS.....</b>	<b>5</b>
<b>AGRADECIMIENTOS.....</b>	<b>8</b>
<b>DEDICATORIA .....</b>	<b>9</b>
<b>1. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>10</b>
<b>2. OBJETIVOS.....</b>	<b>11</b>
<b>2.1. OBJETIVO GENERAL .....</b>	<b>11</b>
<b>2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....</b>	<b>11</b>
<b>3 REVISIÓN DE LITERATURA .....</b>	<b>12</b>
<b>3.1 ANATOMÍA DE LA GLÁNDULA MAMARIA BOVINA .....</b>	<b>12</b>
<b>3.3 MASTITIS BOVINA .....</b>	<b>14</b>
3.3.1 TIPOS DE MASTITIS.....	14
3.3.1.1 MASTITIS SUBCLÍNICA.....	14
<b>3.3.1.2 MASTITIS CLÍNICA .....</b>	<b>15</b>
3.4 PATOGENIA DE LA MASTITIS .....	15
3.5 DIAGNÓSTICO.....	15
3.6 CULTIVO MICROBIOLÓGICO.....	16
<b>3.8 ETIOLOGÍA.....</b>	<b>17</b>
3.9.1 FACTORES DE VIRULENCIA.....	18
3.9.1.1 POLISACÁRIDOS DE SUPERFICIE.....	18
3.9.1.2 BIÓPELICULA .....	18
<b>3.9.1.3 PROTEÍNA DE UNIÓN A FIBRINÓGENO.....</b>	<b>19</b>
3.9.1.4 PROTEÍNA DE UNIÓN A FIBRONECTINA. ....	19
<b>3.9.1.5 TOXINA ALFA .....</b>	<b>19</b>
<b>3.9.1.6 TOXINA BETA .....</b>	<b>19</b>




---

3.10 RESISTENCIA ANTIBIÓTICA.....	20
3.12 LA MASTITIS Y SU EFECTO EN SALUD PÚBLICA.....	23
<b>4 MATERIALES Y MÉTODOS .....</b>	<b>24</b>
4.1 MATERIALES .....	24
4.1.1 MATERIALES DE CAMPO .....	24
4.1.2 MATERIALES DE LABORATORIO .....	25
4.2 MÉTODOS .....	26
4.2.1 DISEÑO DE INVESTIGACIÓN.....	26
4.2.2 ÁREA DE ESTUDIO .....	26
<b>4.2.2.1 LUGAR.....</b>	<b>26</b>
4.2.3 DEFINICIÓN DE LA MUESTRA.....	27
4.2.3.1 MUESTREO .....	27
4.2.3.2 DEFINICIÓN DE VARIABLES .....	27
<b>4.2.3.2.1 VARIABLES DEPENDIENTES .....</b>	<b>27</b>
<b>4.2.3.2.2 VARIABLES INDEPENDIENTES O EXPLICATIVAS ...</b>	<b>27</b>
<b>5 RESULTADOS .....</b>	<b>41</b>
<b>6. DISCUSIÓN.....</b>	<b>51</b>
<b>7. CONCLUSIONES.....</b>	<b>54</b>
<b>8. RECOMENDACIONES .....</b>	<b>55</b>
<b>9. BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>56</b>
<b>10. ANEXOS.....</b>	<b>67</b>



## ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO 1. MATERIALES DE CAMPO .....	24
CUADRO 2. MATERIALES DE LABORATORIO.....	25
CUADRO 3. HACIENDAS ANALIZADAS.....	26
CUADRO 4 REGISTRO DE MUESTRAS DE AISLADOS CON SU RESPECTIVO ANTIBIOGRAMA .....	42
CUADRO 5. ANTIBIOGRAMA EN PORCENTAJES DE AISLADOS DE <i>S. AUREUS</i> DE MASTITIS BOVINA. ....	46
CUADRO 6 REGRESIÓN LOGÍSTICA PARA LAS VARIABLES RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS EN RAZÓN AL PERIODO DE LACTANCIA Y NÚMERO DE LACTANCIAS. .....	47

## ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1. PORCENTAJE DE AISLADOS POSITIVOS DE <i>S. AUREUS</i> Y OTRAS BACTERIAS .....	41
FIGURA 2. PORCENTAJES DE NIVELES DE RESISTENCIA.....	45
FIGURA 3 RESULTADOS PORCENTUALES DE SENSIBILIDAD DEL ANTIBIOGRAMA. ....	46
FIGURA 4 RESULTADOS PORCENTUALES DE RESISTENCIA DEL ANTIBIOGRAMA.....	47
FIGURA 5. RESISTENCIA BACTERIANA DEPENDIENDO PERIODO DE LACTANCIA.. ....	49



## ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO 1 SUSCEPTIBILIDAD A PENICILINA G.....	67
ANEXO 2 SUSCEPTIBILIDAD A TETRACICLINA.....	67
ANEXO 3 SUSCEPTIBILIDAD A CEFALEXINA .....	68
ANEXO 4 SUSCEPTIBILIDAD AMOXICILINA + AC .....	68
ANEXO 5 SUSCEPTIBILIDAD A KANAMICINA .....	69
ANEXO 6 SUSCEPTIBILIDAD A SULFA-TRIMETOPRIM .....	69
ANEXO 7 SUSCEPTIBILIDAD A ESTREPTOMICINA .....	70
ANEXO 8 SUSCEPTIBILIDAD A ERITROMICINA .....	70
ANEXO 9 SUSCEPTIBILIDAD A CLOXACILINA .....	71
ANEXO 10 PRUEBAS DE CHI-CUADRADO ASOCIACIÓN ENTRE SUSCEPTIBILIDAD DE PENICILINA Y EL NÚMERO DE LACTANCIAS.....	67
ANEXO 11 ASOCIACIÓN DE RESISTENCIA DE ANTIBIÓTICOS Y PERIODO DE LACTANCIA PRUEBAS DE CHI-.....	68
ANEXO 12 ASOCIACIÓN ENTRE RESISTENCIA ANTIBIÓTICA Y NÚMERO DE LACTANCIAS, PRUEBAS DE CHI-CUADRADO.....	68
ANEXO 13 PRUEBA DE CHI-CUADRADO ASOCIACIÓN DE RESISTENCIA BACTERIANA Y MANEJO PREVENTIVO TABULACIÓN CRUZADA.....	75
ANEXO 14 PRIMER DÍA TRABAJO DE CAMPO HACIENDA WASHIMA. ....	73
ANEXO 15 PRUEBA DE CMT DETECCIÓN DE MASTITIS.....	73
ANEXO 16 TOMA DE MUESTRAS HACIENDA RODEO PARROQUIA JIMA.....	74
ANEXO 17 RECOLECCIÓN DE MUESTRAS HACIENDA DR. BYRON TERÁN.....	74
ANEXO 18 HACIENDA LA EUROPEA SECTOR TARQUI. ....	75
ANEXO 19 MUESTRA DE LECHE DE LA HACIENDA SUSTAC.....	75
ANEXO 20 HACIENDA ROSA DE ORO SALA DE ORDEÑO TOMA DE MUESTRAS. ....	76
ANEXO 21 SALA DE ORDEÑO HACIENDA LA ESMERALDA TOMA DE MUESTRA. ....	76
ANEXO 22 HACIENDA LOS ÁLAMOS, VACAS EN ORDEÑO; TOMA DE MUESTRAS.....	77
ANEXO 23 HACIENDA "EUROPEA" SECTOR TUTUPALI. ....	77
ANEXO 24 GRANJA NERO UNIVERSIDAD DE CUENCA TOMA DE MUESTRAS.....	78
ANEXO 25 ANTIBIOGRAMA LABORATORIO BIOMICROVET CIA LTDA.....	79
ANEXO 26 FORMATO DE ENCUESTA DE MANEJO TERAPÉUTICO Y PREVENTIVO.....	80

CLÁUSULA DE LICENCIA Y AUTORIZACION PARA PUBLICACION EN EL REPOSITORIO  
INSTITUCIONAL

DIEGO EFRAÍN ARGUDO SUIN, en calidad de autor y titular de los derechos morales y patrimoniales del trabajo de la titulación **“Factores que afectan la susceptibilidad antibiótica de *Staphylococcus aureus* aislado de mastitis bovina”**, de conformidad con el Art. 114 del CODIGO ORGANICO DE LA ECONOMIA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACION reconozco a favor de la Universidad de Cuenca una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos. Así mismo, autorizo a la Universidad de Cuenca para que realice la publicación de este trabajo de titulación en el Repositorio Institucional, de conformidad a lo dispuesto en el el Art. 144 de la ley ORGANICA de Educación Superior.

Cuenca, 10 de noviembre de 2017



DIEGO EFRAÍN ARGUDO SUIN

C.I 010524056-8





---

CLÁUSULA DE PROPIEDAD INTELECTUAL

DIEGO EFRAÍN ARGUDO SUIN, autor del trabajo de titulación, “**Factores que afectan la susceptibilidad antibiótica de *Staphylococcus aureus* aislado de mastitis bovina**”, certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autor.

Cuenca, 10 de noviembre de 2017

---

DIEGO EFRAÍN ARGUDO SUIN

C.I 010524056-8



---

## DEDICATORIA

Esta investigación lo dedico a Dios, por darme la bendición y la capacidad de estudiar esta carrera que tanto me apasiona.

A mis padres, por estar siempre apoyándome en todo momento, pese a las dificultades que hemos sabido sobrellevar.

A mis familiares y amigos, que siempre estuvieron motivándome para alcanzar esta meta tan anhelada.

---

## 1. INTRODUCCIÓN

La mastitis es una de las principales enfermedades del ganado bovino lechero, afecta al tejido mamario, su etiología es diversa: traumática, infecciosa y tóxica (Ramírez, 2013); por su manifestación se clasifica en clínica y subclínica, en ambos casos afecta gravemente al bienestar animal (Fernández, et al., 2012). *Staphylococcus aureus* es el uno de los principales agentes etiológicos debido principalmente a su virulencia, resistencia y carácter contagioso (Camussonea & Calvinhoa, 2013).

La inadecuada terapéutica antimicrobiana de la mastitis bovina se ha convertido en un problema de salud pública debido a los residuos de antibióticos en leche y carne (Organización Mundial de la Salud, 2016). Según el Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas de Argentina (2015), se estima que, en el año 2050, las infecciones por gérmenes fármaco-resistentes serán la primera causa de muerte en la población humana (Malbran, 2015). La resistencia a los antibióticos tiene serias repercusiones en la economía mundial debido principalmente a los mayores costos en la terapia antimicrobiana y mortalidad más elevada (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, 2004).

Se estima que las pérdidas mundiales por mastitis bovina alcanzan los 37 billones de dólares americanos, donde la resistencia a los antimicrobianos es parte fundamental del problema (Bedolla C. , 2008).

Con esta investigación se trató de obtener datos recientes y reales de las bacterias principalmente *S. aureus* causantes de pérdidas económicas y los graves problemas en salud pública por la generación de cepas resistente.



---

## 2. OBJETIVOS

### 2.1. Objetivo general

Identificar los factores de riesgo que contribuyen al desarrollo de mastitis bovina causada por *Staphylococcus aureus* resistente a los antibióticos de uso frecuente en diferentes hatos de las provincias del Azuay y Cañar, para poder definir posibles estrategias que permitan reducir la frecuencia de esta patología.

### 2.2. Objetivos específicos

1. Identificar casos de mastitis bovina causados por *Staphylococcus aureus* con resistencia a los antibióticos de uso común.
2. Identificar factores ambientales y del hospedero que potencialmente contribuyen al desarrollo de *Staphylococcus aureus* resistente en mastitis bovina
3. Estimar el impacto de los factores de riesgo en el desarrollo de *Staphylococcus aureus* con resistencia a los antibióticos.

---

### 3 REVISIÓN DE LITERATURA

#### 3.1 Anatomía de la glándula mamaria bovina

La glándula mamaria bovina está representada en cuartos mamarios independientes de origen dérmico, considerada una glándula de tejido sudoríparo modificado (Avila & Romero, 2001).

##### 3.1.1 Ligamentos suspensorios

Responsables de mantener a la ubre adosada a la pared abdominal, la fortaleza de estos es deseable debido que ayudan a evitar diferentes traumatismos, y facilitan el ordeño (Wolter, et al., 2004).

##### 3.1.2 Sistema excretor y conductos de leche

En la publicación de Ávila & Romero (2001), referente al sistema excretor y conductos, se manifiesta que la leche es sintetizada por un grupo de células especializadas llamadas alveolos o acino mamarios y luego excretada fuera del cuerpo por una red conductos.

#### 3.2 Fisiología de la glándula mamaria.

El parénquima de la glándula mamaria está dividida en pequeños lóbulos por septos interlobulares, septos que son derivados de las láminas suspensorias y se constituyen de tejido rico en colágeno y fibras elásticas además estos septos interlobulares son muy ricos en vasos sanguíneos, linfáticos y sensoriales.

El alveolo que forma el lobulillo se vacían en ductos intralobulillares los que desembocan en un espacio colector central los cuales se unen para formar un ducto interlobular estos pueden unirse directamente al seno lactífero u otros ductos lactíferos colectores los cuales presentan una disminución de la luz en el final y un ensanchamiento en la parte media para almacenar y evitar que la leche caiga por gravedad.

El seno lactífero glandular es una cavidad situada encima de la base del pezón puede tener una capacidad entre 100 a 400g

Cada lóbulo glandular está integrado por una red de lobulillos y cada uno de estos en 150 a 200 alveolos aproximadamente (Glauber, 2007)

### **3.2.1 Alveolo mamario**

Es la unidad funcional de la glándula mamaria; esfera hueca formada por células secretoras de leche, su función es:

- Recepción y transformación de precursores sanguíneos en nutrientes de la leche.
- Descarga de leche dentro del lumen. (Avila & Romero, 2001)

### **3.2.2 Los mecanismos de la respuesta inmune mamaria**

Según García & Campos (2006), el contacto de las bacterias con células somáticas y epiteliales, provoca el estímulo del sistema inmune innato a través la activación de la transcripción de genes de respuesta clave.

#### **3.2.2.1 Sistema inmunitario innato o natural**

La mayoría de agentes no logran pasar gracias a diferentes barreras naturales, entre las importantes se encuentran el canal del pezón y la piel considerados la primera línea de defensa Laguna (2014), evitan la penetración del agua, como también la pérdida de capas inferiores, cuando la piel sufre alteraciones o cambios en su contenido es vulnerable a la colonización de patógeno Meglia & Mata (2001).

La segunda línea de defensa, cuenta con mecanismos químicos y celulares; Una capacidad clave de la inmunidad innata es una respuesta defensiva concentrada en el órgano afectado desencadenando una inflamación (Concha, 2009).



---

### **3.2.2.2 Sistema inmunitario adquirido o específico**

Compone un sistema de defensa que reconoce, destruye y crea un sistema de memoria a los antígenos invasores, si el mismo microorganismo se introduce por segunda vez en el sistema inmunitario, este reacciona en menor tiempo y es más eficaz (Mora, Aquino, & Alexis, 2007).

El sistema inmunitario adquirido radica en dos líneas principales que proporcionan resistencia a los invasores: una inmunidad mediada por anticuerpos o humoral que se dirige contra los invasores extracelulares y la otra como inmunidad mediada por células o inmunidad celular (Chavalgoity, Pereira, & Rial, 2008).

## **3.3 Mastitis bovina**

La palabra mastitis deriva del griego, donde mastos significa “mama” e itis “inflamación”. La Federación Internacional de Lechería (2016), define a la mastitis bovina “como una enfermedad que cursa con un proceso inflamatorio de la glándula mamaria, que tiene por objetivo la eliminación del agente patógeno y la restauración de la funcionalidad del órgano”. Opina Azocar (2012) que la mastitis bovina ejerce un gran impacto en la producción, bienestar animal y salud pública.

### **3.3.1 Tipos de mastitis**

#### **3.3.1.1 Mastitis subclínica**

En el artículo de Fernández, et al., (2012), exponen que esta forma de mastitis no presenta cambios notables a simple vista en la leche o ubre.

Espinoza & Mier (2013), afirman que la mastitis subclínica es de quince a cuarenta veces más frecuente que la mastitis clínica; solo puede ser demostrada a través de pruebas que evidencian la presencia de los microorganismos infecciosos.

Salvador & Peñafiel (2011), manifiestan que la mastitis subclínica es la más importante por diversas razones, generalmente, precede a la forma

clínica, tiende a la cronicidad, reduce la cantidad, calidad de leche y es contagiosa.

### **3.3.1.2 Mastitis clínica**

La mastitis clínica es definida por Guízar & Ignacio (2008), como una patología inflamatoria de la glándula mamaria que puede ser fácilmente observada e identificada por medio del examen clínico de la ubre y leche.

Bedolla (2008), menciona que la mastitis clínica se caracteriza por signos inflamatorios (rubor, tumefacción, calor, dolor y pérdida de función); la leche puede presentar una apariencia anormal o considerables cambios en sus características físico-químicas y organolépticas. En algunos casos, hay aumento de la temperatura rectal, letargo, anorexia e incluso la muerte. Además, las bacterias están presentes en la leche, lo que disminuye su rendimiento y la calidad.

### **3.4 Patogenia de la mastitis**

Petersson, et al., (2010), y también Gasque (2008), describen a la patogenia como una infección de la glándula mamaria, casi siempre ocurre a través del conducto glandular que es la primera línea de defensa.

Salvador & Peñafiel (2011), indican que la mastitis dependiendo de la severidad y el número de cuartos infectados de la ubre se puede encontrar fibrosis, edema inflamatorio, gangrena o abscesos y atrofia de tejido mamario.

### **3.5 Diagnóstico**

Los "casos de mastitis clínica resultan fáciles de reconocer debido a las evidentes alteraciones; que ocurren en la glándula mamaria y su secreción (Ramírez, 2013, p. 66).

Los diagnósticos de los casos subclínicos de mastitis requieren aplicar pruebas especiales como California Mastitis Test (CMT) que determinan el incremento células somáticas para confirmar un proceso inflamatorio; el





---

agente causal solamente puede ser identificado mediante el cultivo microbiológico (Scaramelli & Gonzalez, 2005).

### **3.5.1 Prueba de california para mastitis.**

Esta prueba ha sido empleada durante años y sigue siendo la prueba más frecuentada a nivel de campo para el diagnóstico de mastitis. Es una prueba sencilla que es útil para detectar la mastitis subclínica por valorar groseramente el recuento de células de la leche.

Esto se determina en relación a la reacción de gelificación; la prueba consiste en el agregado de un detergente a la leche, el alquilauril sulfonato de sodio, causando la liberación del ADN de los leucocitos presentes en la ubre y este se convierte en combinación con agentes proteicos de la leche en una gelatina (Bedolla, et al, 2007).

## **3.6 Cultivo microbiológico**

Es el único método que permite identificar el agente etiológico de la mastitis; permitiendo diseñar, implementar o modificar programas de control, evaluación de las medidas de control y orientar las estrategias terapéuticas. Las desventajas del cultivo son su laboriosidad, tiempo que consume, requerimiento del personal entrenado y elevado costo (Scaramelli & Gonzalez, 2005).

## **3.7 Antibiógrama.**

Es un métodos in vitro que determinan la susceptibilidad de los patógeno a una variedad de agentes antimicrobianos, bajo condiciones de laboratorio específica y estandarizada (Pedrique, 2002)

Este proceso se debe incorporar plenamente en la actividad clínica; esta práctica es relevante en la elección del tratamiento antimicrobiano y en el conocimiento de la epidemiología de los mecanismos de resistencia, se ha

convertido en una herramienta imprescindible para establecer medidas epidemiológicas en el control de las infecciones producidas por las bacterias resistentes y en la aplicación de las políticas de antimicrobianos. (Fernández, et al., 2013).

La International Organization for Standardization definió en tres categorías con el objetivo de evitar la confusión. Estas han quedado definidas en función de la probabilidad del éxito o del fracaso terapéutico:

- **Sensible:** cuando un aislado bacteriano es inhibido in vitro por una concentración de un antimicrobiano que se asocia a una alta probabilidad con el éxito terapéutico.
- **Intermedio:** cuando un aislado bacteriano es inhibido in vitro por una concentración de un antimicrobiano que se asocia a un efecto terapéutico incierto.
- **Resistente:** cuando un aislado bacteriano es inhibido in vitro por una concentración de un antimicrobiano que se asocia a una alta probabilidad con el fracaso terapéutico. (Rafael, 2010)

### 3.8 Etiología

Se han identificado más de 140 microorganismos causantes de mastitis de las cuales podemos clasificarlos en ambientales y contagiosos (Fernández, et al., 2012):

#### 3.8.1 Ambientales

Streptococcus ambientales y en menor grado coliformes (Camussonea & Calvinhoa, 2013)

##### 3.8.1.2 Patógenos no comunes

*Arcanobacterium pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, levaduras, *Nocardia asteroides*, *Prototheca spp*, entre otros (Hans, 2001).

---

### 3.8.2 Contagiosos

Dentro los principales tenemos: *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus* y *Mycoplasmas* (Hans, 2001).

### 3.9 Staphylococcus aureus

Ramírez (2013), menciona que la bacteria *Staphylococcus aureus* es considerada un microorganismo de gran potencial para causar múltiples infecciones en humanos y animales. Es la especie más virulenta, responsable de un amplio grupo de enfermedades, que van desde infecciones de la piel y tejidos blandos hasta infecciones graves, potencialmente mortales (Bush & Schmidt, 2010).

En una investigación realizada por el tecnólogo de Virginia, el 40% de las vacas con mastitis por *S. aureus* tiene recuentos de células somáticas menores a 400000 células/ml (Acuña & Rivadeneira, 2008). En otro estudio realizado por la Universidad Politécnica Salesiana en el sector de Cayambe, Provincia de Pichincha de nuestro país, se determinó que el 50% de los casos de mastitis eran causados por *S. aureus* (Farinango, 2015).

#### 3.9.1 Factores de virulencia

La alta virulencia de *S. aureus* se debe principalmente a diferentes mecanismos:

##### 3.9.1.1 Polisacáridos de superficie

La mayoría de *Staphylococcus aureus* producen microcápsulas a partir de polisacáridos de superficie que le confieren resistencia a la fagocitosis, estas estructuras son resistentes a las enzimas lisosomales y a los agentes oxidantes de las células fagocíticas (Camussonea & Calvinhoa, 2013).

##### 3.9.1.2 Biópelícula

Camussonea & Calvinhoa (2013), manifiestan que algunas cepas de *S. aureus* tienen la capacidad de producir biópelículas, donde comunidades de

células bacterianas adheridas a un sustrato, a una interface o entre sí, se aíslan contenidas en una matriz polimérica extracelular, esta estructura impide o dificulta el trabajo de las células fagocíticas y la difusión de agentes antibióticos; en estas circunstancias las bacterias se multiplican y prevalecen resguardadas de los fenómenos inmunológicos, constituyendo infecciones crónicas (Archer et al., 2011).

### **3.9.1.3 Proteína de unión a fibrinógeno**

El Clf (factor de aglutinación) se encuentra presente en la mayoría de las cepas de *S. aureus* humana y bovina, debe su nombre a que su interacción con el fibrinógeno plasmático que conduce a una aglomeración instantánea de las células bacterianas, dando propiedades antifagocíticas (Castañón, 2012).

### **3.9.1.4 Proteína de unión a fibronectina.**

*S. aureus* produce proteínas de unión a fibronectina, haciendo más efectiva su adherencia los tejidos, de esa manera vencen la acción expulsiva del ordeño; este comportamiento protegería a la bacteria de la respuesta inmunológica del huésped y la terapia con antibióticos (Hernandez et al., 2005)

### **3.9.1.5 Toxina alfa**

La  $\alpha$ -toxina es una proteína tóxica para un amplio rango de células de mamíferos, particularmente eritrocitos; su función es convertir el tejido del huésped en nutrientes para la bacteria que la expresa (Chans, 2007).

### **3.9.1.6 Toxina Beta**

Castañón (2012), y Zendejas & Soto (2014), confirman que la  $\beta$ -toxina de *S. aureus* es capaz de actuar sobre eritrocitos, neutrófilos, linfocitos, específicamente linfocitos T proliferativos. El efecto que tiene en estas células es degradar la esfingomielin, produciendo hemólisis por las lesiones de membrana de las células (Santos, et al., 2007).

---

### **3.10 Resistencia antibiótica**

Según (Alós, 2015), la resistencia se produce cuando un antibiótico ha perdido su capacidad para controlar o eliminar el crecimiento de una bacteria en concentraciones que inhiben o matan a otras de la misma especie.

Según el Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas de Argentina, se estima que para el año 2050, si perdura la escalada de las resistencias, las infecciones por gérmenes fármaco-resistentes serán la primera causa de muerte de la población humana (Malbran, 2015).

Para este mismo año el costo global de la Reacción Adversa a Medicamentos (RAM) será de hasta \$100 billones de dólares y representará 10 millones de muertes adicionales al año (Agencia Nacional de Regulación, Control y Vigilancia Sanitaria, 2015).

#### **3.10.1 Factores que influyen en la presentación de resistencia bacteriana**

##### ***3.10.1.1 Factores asociados a las bacterias***

El proceso de la resistencia de bacterias ocurre naturalmente con el tiempo, como parte de la adaptación de las bacterias, sin embargo, el uso indiscriminado y/o inadecuado de los antimicrobianos en salud humana, sanidad animal y producción agroalimentaria han acelerado notablemente este proceso (Malbran, 2015).

La presión selectiva que causa la aplicación de antibióticos, propicia un ambiente de selección Darwiniana de supervivencia de cepas microbianas con mecanismos de resistencias que afectarán el éxito terapéutico (Sumano & Ocampo, 2006).

### **3.11 Tipos de resistencia.**

#### **3.11.1 Natural**

La resistencia natural es un carácter constante de cepas de una misma especie bacteriana y es un mecanismo permanente, determinado

genéticamente y sin correlación con la dosis de antibiótico (Perez & Atzin, 2013) o

Según Sumano & Ocampo, (2006), el conocimiento de las resistencias naturales permite prever la actividad o inactividad de moléculas frente a microorganismos en caso de antibioterapia o antibioterapia empírica.

#### **3.11.1.2 Inactivación del antibiótico por enzimas:**

La bacterias produce enzimas que inactivan al antibiótico; las más importantes son las betalactamasas, aunque hay enzimas modificantes de aminoglucósidos, cloranfenicol, las tetraciclinas y los macrólidos (Gomez, et al, 2015)

#### **3.11.1.3 Resistencia a betalactamicos.**

La resistencia que ocasionan a este grupo es grave pues los betalactamicos son de los más frecuentados en las diferentes terapéuticas

El principal mecanismo de resistencia es la alteración de PBPs(alteración de enzimas diana).

Los PBPs son necesarios para que la bacteria forme su pared celular y los betalactamicos se fijan en estas enzimas, cuando la bacteria modifica su PBPs harán que no fije haciéndole resistente (Pérez, 1998)

#### **3.11.1.4 Modificaciones en el sitio blanco**

La resistencia bacteriana conferida por la alteración del sitio en donde actúa el antibiótico consiste en la modificación de algunos sitios específicos de la célula bacteriana como la pared celular, la membrana celular, la subunidad 50S o 30S ribosomales, entre otras. Por ejemplo, la modificación por mutación de los genes GyrA y GyrB que codifican para las topoisomerasas II y IV respectivamente, ofrecen resistencia bacteriana a *S. aureus*, *S. epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa* y *E. coli* frente a las quinolonas. (Vignoli & Seija, 2000) (Perez & Atzin, 2013)

---

### **3.11.1.5 Alteración en las barreras de permeabilidad**

Este mecanismo se debe a los cambios que se dan en los receptores bacterianos específicos para los antibióticos o por alteraciones estructurales en los componentes de envoltura de la célula bacteriana (membrana o pared celular) que influyen en la permeabilidad, así como a la pérdida de la capacidad de transporte activo a través de la membrana celular o la expresión de bombas de eflujo las cuales se activan en el momento en que el antibiótico se introduce a la célula bacteriana (Kourí, 2014)

### **3.11.2 Adquirida**

Es realmente importante desde el punto de vista clínico, se debe a la modificación de la carga genética de la bacteria y puede aparecer por mutación cromosómica o por mecanismos de transferencia genética (Pérez, 1998).

#### **3.11.2.1 Extracomosomal**

Muchas bacterias no solamente tienen información en su ADN cromosómico bacteriano sino también en plásmidos que son replicas independientes del cromosoma. (Betancor, Gadea, & Flores, 2008)

#### **3.11.2.2 Mutación cromosómica de bacterias**

Los mecanismos de la herencia tienden a conservar la expresión de las características en los individuos, pero esto no siempre es tan cierto e inflexible, ya que existen mutaciones que son cambios bruscos ocurridos en el genotipo y pueden ser transmitidas a las generaciones futuras (Iñaez, 1998).



---

### **3.11.3 Los mecanismos de transferencia genética**

- **Transformación**
- **Conjugación**
- **Transducción** (Betancor, et al., 2008). (Sumano & Ocampo, 2006).

## **3.12 La mastitis y su efecto en salud pública.**

### **3.12.1 Gérmenes fármaco-resistentes**

Malbran (2015), enumera las consecuencias de una infección por gérmenes resistentes: mayor duración de la infección, pérdida de protección en el uso profiláctico en cirugías y procedimientos médicos. Además, la prevalencia creciente de reacción adversa medicamentosa en seres humanos y en animales amenaza con erosionar a la economía mundial por las pérdidas de productividad y el incremento de los costos de tratamiento. Por otro lado, en Estados Unidos, de cada dos millones de personas infectadas con bacterias multirresistentes, mueren 23,000 anualmente (Alós, 2015).

### **3.12.2 Impacto de terapias antibióticas inadecuadas en los alimentos y salud pública**

La Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) (2004), realiza un llamado urgente a nivel mundial para responder a la aumentada amenaza de los patógenos resistentes a los antibióticos en los sistemas de producción de alimentos del mundo. La preocupación urgente sobre los crecientes niveles de resistencia a los antimicrobianos en microorganismos actores de infección, se vuelven menos sensibles al tratamiento, y las infecciones o enfermedades son más difícil o imposible para curar.





## 4 MATERIALES Y MÉTODOS

### 4.1 Materiales

#### 4.1.1 Materiales de campo

**Cuadro 1. Materiales de Campo**

Biológicos		Químicos	Físicos
Muestras de leche bovinos.	de	Alcohol	Hoja de campo.
		Agua destilada	Caja para conservación de muestras
		Reactivo CMT	de Refrigerantes
			Cinta adhesiva de papel
			Recipientes plásticos estériles de boca ancha
			Guantes de examinación de látex.
			Cámara de fotos digital.
			Paleta CMT
			Algodón
			Toallas.

## Cuadro 2. Materiales de laboratorio

## Cuadro 2. Materiales de laboratorio

Argudo Suin Diego Efraín.

## 4.2 Métodos

### 4.2.1 Diseño de investigación

La investigación es descriptiva exploratoria cuasi experimental.

### 4.2.2 Área de estudio

#### 4.2.2.1 Lugar

Esta investigación se realizó en 19 haciendas de las provincias de Azuay y Cañar:

**Cuadro 3. Haciendas analizadas**

Provincia	Cantón	Parroquia	Nombre de hacienda o propietario
Azuay	Sigsig	Jima	H. Sr. Washima
			H. Sr. Sacaquirin
			H. Sra Pillacela
			H. Rodeo
			H. Srta. Argudo
	Cuenca	Baños	Universidad de Cuenca (Nero)
			H. Dr Guillermo Serpa
			Pecalpa
		Tarqui	Pradera
			Rosa de Oro
			H. Europea
		Victoria del Portete	H. Sr Patiño
			Universidad de Cuenca (Irquis)
			H. Rancho Bonanza
Cañar	Biblián		H. los Álamos
			H. Dr Bayron Terán
		Tutupali	H. Europea
		San Joaquín	H. Sustag
			La Esmeralda. (Sr ELJURI)

**Cuenca:** Capital de la provincia del Azuay; ubicada en las coordenadas 2°54'08"S 79°00'19"O , altitud media 2500 msnm.

**Sigsig:** Cantón de la provincia del Azuay, ubicado al sureste de la provincia a unos 60 km de la capital Cuenca; altitud media 2755 msnm.

**Biblián:** Cantón de la provincia de Cañar, ubicación: 2°43'S 78°53'O; altitud media 2608 msnm. (Wikipedia, 2017)

---

### 4.2.3 Definición de la Muestra

#### **4.2.3.1 Muestreo**

Dirigido a 218 vacas con mastitis.

#### **4.2.3.2 Definición de variables**

Se definieron dos tipos de variables cualitativas:

##### **4.2.3.2.1 Variables dependientes**

Susceptibilidad antimicrobiana;

- Resistencia nula o baja (uno a tres antibióticos)
- Media-alta (cuatro a seis antibióticos)
- Multiresistente (más de seis antibióticos).

##### **4.2.3.2.2 Variables independientes o explicativas**

Factores de la vaca: número y tiempo en lactancia

Factores de manejo: profilaxis y control terapéutico

Para establecer los grupos de acuerdo a las variables del estudio se clasificó de la siguiente manera:

---

#### **4.2.3.2.2.1 Número de lactancias.**

- Vaca joven (una a dos lactancias)
- Vaca madura (tres a cinco lactancias)
- Vaca longeva (seis lactancias en adelante) (Almaw, et al, 2007)

#### **4.2.3.2.2.2 Tiempo de lactancia**

- Lactancia temprana (uno a tres meses),
- Lactancia media (cuatro a seis meses)
- Lactancia tardía (siete meses en adelante). (Almaw, et al, 2007)

Para la calificación de manejo si es bueno o deficiente se realizó una encuesta por predio (ver anexo 26)

### **4.2.4 Análisis de los datos**

El análisis se realizó mediante Chi cuadrado de Pearson, para determinar la asociación o independencia de los factores en estudio y la susceptibilidad a antibióticos. Como estimador de riesgo se determinaron los coeficientes de Odds ratio.

## **4.3. Procedimiento**

### **4.3.1 Procedimientos realizados en el campo.**

- a) Planificación de visita y trabajo en las haciendas con los dueños o administradores.**
- b) Identificación y toma de las muestras (cuarto infectado).**

Tomar muestras del leche previo al ordeño por método CMT, luego la recolección de muestras de leche mediante lo recomendado por la



---

Organización Global de Control de Mastitis y Calidad de la leche (NMC, 2010)

**a) Procedimiento para la toma de muestra de un cuarto individual.**

1. Los pezones deben estar limpios de lo contrario se lavaron y secaron antes de tomar la muestra
2. Se realizó una asepsia del pezón con una solución de alcohol al 72%.
3. Secar el pezón con una toalla individual desechable.
4. Eliminar los primeros chorros de leche del pezón.
5. Abrir la funda con cuidado sin rozar los bordes ni el interior para evitar contaminación.
6. Recolectar las muestras de leche en fundas plásticas estériles de uso único, propio para la recolección de muestras de leche; evitando el contacto con la extremidades posteriores y colas sucias.
7. Identificar las fundas de plástico por nombre o número de la vaca.
8. Colectar uno a tres chorros de leche e inmediatamente cerrar la bolsa plástica.
9. Preservar las muestras inmediatamente en hielo para su transporte al laboratorio.

**e) Registro de muestras antes del envío al laboratorio.**

Se registró en el cuaderno de campo y la hoja de Microsoft Excel

---

**f) Envío de la muestra.**

Las muestras de leche se transportaron en un termo con material refrigerante al laboratorio de bacteriología, para su respectivo análisis según la norma EUCAST.

Protocolo de laboratorio.

***Preparación de los medios de cultivo***

**Agar sangre**

Preparación:

- Disolver 40 g de agar sangre en 1 litro de agua desmineralizada calentado en un baño de agua.
- Tratar la solución en autoclave durante 15 minutos a 121° C.
- Dejar enfriar hasta alcanzar una temperatura aproximada a 37° C y se añadió 5 – 8% de sangre desfibrada estéril.
- Verter el preparado en placas Petri estériles.
- Verter hasta la formación del gel y guardar en refrigeración.

**Agar sal manitol**

Preparación

- Disolver 111.02 g de agar sal manitol en un litro de agua desmineralizada calentado en un baño de agua.
- Tratar la solución en autoclave durante 15 minutos a 121° C
- Enfriar hasta alcanzar una temperatura aproximada a 37°C
- Verter el preparado en placas Petri estériles.
- Enfriar hasta la formación del gel y guardar en refrigeración



---

### **Agar Mueller Hinton.**

- Disolver 34 g de agar Mueller Hinton en un litro de agua desmineralizada calentado en un baño de agua.
- Tratar la solución en autoclave durante 15 minutos a 121° C
- Enfriar hasta alcanzar una temperatura aproximada a 37° C
- Verter en placas Petri estériles.
- Enfriar hasta la formación del gel y guardar en refrigeración

### **Cultivo**

- Cultivar la muestra de leche en estría en agar sangre y agar manitol sal.
- Incubar durante 24 horas.



---

### **Tinción de GRAM**

1. En un portaobjetos se colocó una colonia.
2. Fijar la placa con calor.
3. Proceder a teñir con cristal violeta y reposar por un minuto.
4. Lavar la placa con agua corriente.
5. Añadir solución de yodo y reposar por un minuto.
6. Lavar con agua corriente.
7. Añadir alcohol y reposar 30 segundos.
8. Lavar con agua corriente.
9. Proceder a teñir con fucsina y se reposo la placa 30 segundos.
10. Lavar con agua corriente.
11. Secar al aire y observar al microscopio con lente 100X.

### **Prueba de catalasa**

1. En un portaobjeto se colocó una colonia (debe ser tomada con un palillo y evitar arrastrar agar sangre en la recolección ya que puede dar falso positivo)
2. Proceder a añadir una gota de agua oxigenada sobre la colonia y se observó la reacción
3. La presencia de efervescencia es catalasa positiva nos indicó que se trata de *Staphylococcus*.

### **Prueba de la Coagulasa**

1. En dos tubos de ensayo pequeños, se colocó un ml de plasma.
2. A un tubo se añadió dos – tres colonias del cultivo de 18 a 24 horas.



3. Proceder a incubar ambos tubos a 37° C y se examinó luego de 4 horas.
4. La aparición de coágulos indico que la cepa en estudio es coagulasa positiva. La coagulación aparece generalmente a los 30 a 60 segundos, teniendo lugar dentro de una a cuatro horas y hasta las 24 horas. Por lo tanto, fue necesario realizar lectura cada 15 minutos en la primera hora, después cada hora hasta las cuatro horas y por último a las 24 horas.
5. La prueba de coagulasa positiva indica que se trata de *Staphylococcus aureus*.

### **Antibiograma**

Primero, se realizó en agar Mueller Hinton antes mencionado y con discos de sensibilidad microbiana:

- Penicilina
- Tetraciclina
- Kanamicina
- Cefalexina
- Sulfa más trimetropin
- Amoxicilina más ácido clavulánico
- Estreptomicina
- Cloxacilina
- Eritromicina (Anexo 23)

El antibiograma se realizó con discos de sensibilidad en placa según la norma interpretativa de la Sociedad Europea de Microbiología Clínica y Enfermedades Infecciosas (EUCAST).

### ***Medición de los halos***

Luego de incubar las placas del antibiograma se realizó su lectura utilizando una regla para medir el diámetro del halo de inhibición.

La longitud obtenida se comparó con estándares que indicaron si la bacteria presenta resistencia, sensibilidad o sensibilidad intermedia al antibiótico según la norma EUCAST.

## **4.4 Norma EUCAST**

### **Medios para el estudio de la sensibilidad**

Utilizar solamente agar Mueller Hinton (MH).

- El medio para organismos exigentes (MH-F, Mueller-Hinton Fastidious) es MH con un 5% de sangre desfibrinada de caballo y 20 mg/L de  $\beta$ -nicotinamida adenina dinucleótido (NAD).
- Utilizar  $\beta$ -nicotinamida adenina dinucleótido (NAD) con una pureza  $\geq$  98%.

### **Medio para *Staphylococcus***

Agar Mueller-Hinton

### **Preparación de medios en el laboratorio**

- Preparar el medio según las indicaciones del fabricante.
- No añadir la sangre o el NAD hasta que el medio se haya enfriado a 42-45°C (deberá disponerse de sistemas adecuados para medir la temperatura), mezclar bien y verter en las placas de inmediato.



- 
- Verter el medio en las placas sobre una superficie plana para lograr una altura uniforme de  $4,0 \pm 0,5$  mm. Si tras mediciones repetidas la altura resulta, de forma reproducible, por encima o por debajo de 4 mm, ajustar el volumen aun cuando la altura sea de 3,5-4,5 mm.
  - En las placas de uso habitual los volúmenes de agar empleados son: 25 ml para una placa redonda de 90 mm de diámetro, ~ 31 ml para una placa redonda de 100 mm, ~ 71 ml para una placa redonda de 150 mm y ~ 40 ml para una placa cuadrada de 100 mm.

#### **Control de calidad del agar Mueller-Hinton**

- Comprobar que todos los lotes de Mueller-Hinton cumplen con los controles requeridos para todas las combinaciones bacteria-antimicrobiano.

#### **Secado y almacenamiento de las placas de agar**

- En el momento de su uso no deben observarse gotas de agua sobre la superficie del agar.
- Las placas no deben secarse en exceso.
- Las placas se almacenarán entre cuatro-diez grados centígrados.
- La forma de secado y almacenamiento de los medios preparados en los laboratorios dependerá de los equipos disponibles en cada uno de ellos.

#### **Secado y almacenamiento de las placas de agar**

- En el caso de los medios comerciales, se seguirán las indicaciones de almacenamiento recomendadas por el fabricante.
- Las placas deberán estar a temperatura ambiente antes de la inoculación.



- 
- Para las placas de agar Mueller-Hinton F almacenadas en bolsas de plástico o en envases cerrados herméticamente será necesario secarlas antes de su utilización. Esto es para evitar el exceso de humedad, que podría resultar en problemas con zonas borrosas en los bordes o en el interior de los halos.

### **Inóculo**

El método requiere una suspensión del inóculo equivalente al 0,5 de la escala de McFarland

### **Preparación del inóculo**

- Suspender de una a varias colonias en solución salina al 0.85% hasta lograr una suspensión uniforme de una turbidez visible igual a la densidad correspondiente al 0,5 de la escala de McFarland.
- Ajustar la turbidez añadiendo más cantidad de bacterias o solución salina, midiendo hasta alcanzar el 0,5 de la escala de McFarland y empleando un dispositivo fotométrico.

### **Inoculación de las placas**

- Utilizar la suspensión dentro de los 15 minutos una vez preparada siempre antes de los 60 minutos.
- Introducir una torunda de algodón en la suspensión y eliminar el exceso de líquido presionando la torunda contra las paredes del tubo.
- Asegúrese de que las placas están a temperatura ambiente.
- Distribuir el inóculo uniformemente sobre la superficie de toda la placa inoculándola en tres direcciones o empleando un rotor de placas.

---

### **Evitar el exceso de inóculo en las placas**

- Es importante no inocular las placas con un inóculo demasiado denso.
- Controlar que los diámetros de los halos frente a las cepas control se encuentran dentro del rango normal. Los inóculos elevados producen diámetros de halo más pequeños.
- Eliminar el exceso de líquido de la torunda presionándola levemente contra el interior del tubo (no escurrir excesivamente la torunda, particularmente con los microorganismos Gram-positivos) antes de inocular la placa.

### **Almacenamiento de los discos de antimicrobianos**

- Almacenar los stocks de los discos en las condiciones recomendadas por el fabricante.
- Almacenar los discos en uso a 4-8°C en recipientes adecuadamente cerrados con un desecador y protegidos de la luz.
- Antes de abrir los envases de los discos, se deben dejar que adquieran la temperatura ambiente para evitar la condensación de agua. Es mejor mantener los discos a temperatura ambiente durante el día que ponerlos y quitarlos de la nevera repetidas veces.
- No utilizar discos más allá de la fecha de caducidad indicada en el envase.

### **Aplicación de los discos de antimicrobianos**

- Los discos deben colocarse dentro de los 15 minutos de inoculación de la placa.



- 
- Los discos deben quedar en contacto firme y uniforme con la superficie del medio.
  - Los discos deben espaciarse de modo que los halos, en las cepas sensibles, no se superpongan. La superposición impedirá la medida de los diámetros de los halos.

### **Resumen del proceso de inoculación**

- Suspender colonias aisladas a partir de un cultivo de toda la noche en un medio no selectivo.
- Ajustar a una densidad equivalente al 0,5 de la escala de McFarland usando preferentemente un dispositivo fotométrico. Utilizar el inóculo dentro de los 15 minutos.
- Introducir una torunda en la solución y eliminar el exceso de líquido rotando la torunda contra la pared interna del tubo.
- Aplicar el inóculo mediante estrías uniformes sobre toda la superficie del agar.
- Aplicar los discos de antimicrobianos dentro de los 15 minutos de inoculación de la placa e incubar dicha placa dentro de los siguientes 15 minutos.

### **Incubación de las placas**

- Incubar las placas dentro de los 15 minutos de haber colocado los discos. Esto evita la predifusión que podría producir halos de mayor tamaño.



- 
- No apilar un número grande de placas porque la temperatura no uniforme puede afectar el tamaño de los halos (esto depende de la eficiencia del incubador)
  - El MH se incuba en aire y el MH-F en aire con un 4-6% de CO<sub>2</sub>.

### **Condiciones de incubación,**

*Staphylococcus spp.* 35±1 o C en aire durante 16-20h

### **La regla de los 15-15-15 minutos**

#### **Prepare las placas de siguiente manera:**

- Use el inóculo dentro de los 15 minutos después de su preparación y nunca más allá de los 60 minutos.
- Coloque los discos dentro de los 15 minutos de inoculadas las placas.
- Inicie la incubación dentro de los 15 minutos de aplicación de los discos.

#### **Observación de las placas tras la incubación**

- Si el inóculo es correcto y las placas han sido inoculadas adecuadamente se observará un desarrollo confluyente.
- El crecimiento uniforme permite obtener zonas de inhibición (halos) circulares uniformes.
- Si se observan colonias individuales esto indica que el inóculo es muy escaso por lo que debe repetirse la prueba de sensibilidad.

#### **Lectura de los halos**

- Los bordes de los halos (zonas de inhibición) deben leerse en el punto de completa inhibición según se aprecie a simple vista, sosteniendo la placa a unos 30 cm de los ojos.





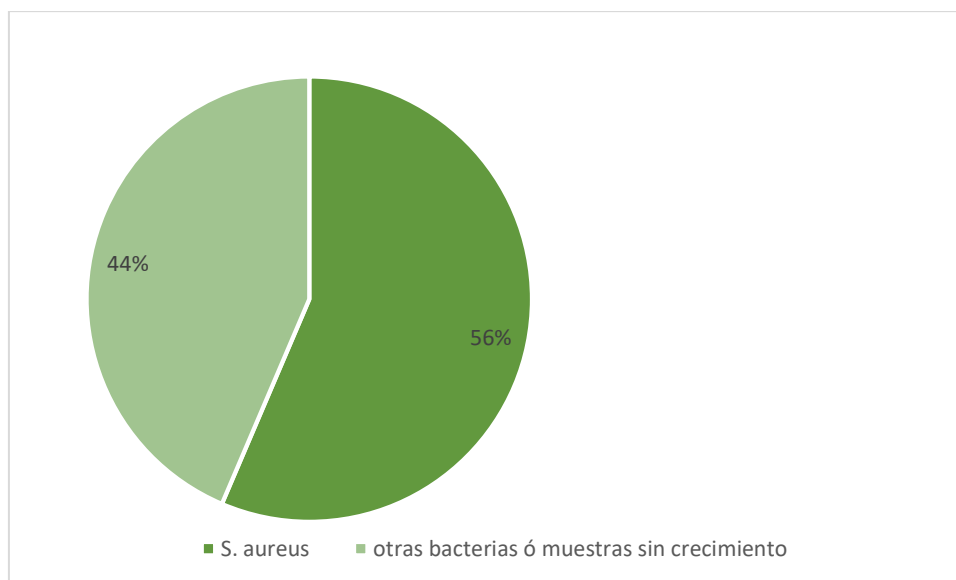
- 
- Leer las placas de MH por el reverso, contra un fondo negro iluminado con luz reflejada.
  - Leer las placas de MH-F por el frente, sin la tapa e iluminadas con luz reflejada.
  - No se debe sostener la placa a contraluz (luz transmitida) o usar lupa, a menos que se indique lo contrario.
  - Los diámetros de la zona de inhibición se miden con una regla, con un calibrador o con un lector automático.
  - En el caso en que haya colonias individuales dentro de los halos, éstas deberán sub-cultivarse, confirmar su pureza y repetir la prueba de sensibilidad si fuera necesario.

### **Interpretación de los halos**

- Confirmar que los diámetros de inhibición para las cepas control están dentro de los rangos aceptables antes de interpretar la prueba de sensibilidad.
- Los diámetros de los halos (ajustados al milímetro) se interpretan dentro de las categorías de sensibilidad (S, I y R) de acuerdo con las tablas publicadas ([www.eucast.org](http://www.eucast.org)). De forma alternativa, se puede utilizar una plantilla con los puntos de corte de EUCAST.

## 5 RESULTADOS

De las muestras analizadas el agente infeccioso más frecuente fue *S. aureus*; de 218 muestras de leche se obtuvieron 122 aislados bacterianos de *S. aureus* y 96 de otras bacterias o muestras sin crecimiento como se muestra en la figura n 1.



**Figura 1.** Porcentaje de aislados positivos de *S. aureus* y otras bacterias

**Cuadro 4. Registro de muestras de aislados con su respectivo antibiograma.**

N	Identificación	Propietario	P	TE	K	CL	SXT	AMC	S	CX	E	N de lact		t de lact	
1	Pancitas	Sr. Washima	S	S	S	S	S	S	S	S	R	8	LONGEVAS	7	TARDIA
2	Luna	Sr. Washima	R	I	I	I	S	I	S	R	I	8	LONGEVAS	6	MEDIA
3	Rusia	Sr. Washima	S	S	I	I	R	S	S	I	I	10	LONGEVAS	2	TEMPRANA
4	Susana	Sr. Washima	R	R	I	I	I	S	S	R	R	10	LONGEVAS	3	TEMPRANA
5	8	Sr. Sacaquirin	R	S	S	S	R	S	S	R	R	8	LONGEVAS	6	MEDIA
6	9	Sr. Sacaquirin	R	I	R	R	I	S	S	I	I	2	JOVEN	2	TEMPRANA
7	336	U Nero	S	S	S	I	I	I	S	R	R	2	JOVEN	6	MEDIA
8	234	U Nero	S	R	R	S	S	S	S	S	S	6	LONGEVAS	8	TARDIA
9	632	Sr. Velez	R	S	I	I	S	I	S	S	I	2	JOVEN	8	TARDIA
10	81	Sr. Velez	R	S	S	S	R	S	S	S	I	7	LONGEVAS	6	MEDIA
11	232	Uirquis	S	R	S	I	S	S	S	I	I	8	LONGEVAS	12	TARDIA
12	509	Uirquis	S	R	S	I	I	S	S	R	I	3	MADURAS	7	TARDIA
13	1	Jaime Patiño	S	R	S	S	R	S	R	S	I	5	LONGEVAS	4	MEDIA
14	92	Dr Serpa	S	S	S	S	S	S	S	S	I	2	JOVEN	12	TARDIA
15	178	Dr Serpa	S	I	S	S	S	S	S	S	I	6	LONGEVAS	7	TARDIA
16	198	Dr Serpa	S	I	S	S	I	S	S	S	I	3	MADURAS	9	TARDIA
17	93	Dr Serpa	S	R	S	S	I	S	S	S	S	4	MADURAS	12	TARDIA
18	Pata	Pillacela	S	S	I	S	S	S	I	S	S	6	LONGEVAS	1	TEMPRANA
19	Chiquita	Pillacela	S	S	S	S	S	I	R	R	S	2	JOVEN	3	TEMPRANA
20	Monga	Pillacela	S	S	I	S	S	S	S	S	I	4	MADURAS	2	TEMPRANA
21	Juliana	Pillacela	S	I	S	S	R	S	I	R	I	3	MADURAS	6	MEDIA
22	1982	Teran	S	I	R	R	S	S	S	S	I	5	LONGEVAS	5	MEDIA
23	1474	Teran	R	S	S	R	R	S	S	R	I	5	LONGEVAS	3	TEMPRANA
24	Fina	Teran	S	I	S	S	R	S	R	R	R	10	LONGEVAS	1	TEMPRANA
25	Katy	Teran	S	S	S	R	I	S	S	R	R	8	LONGEVAS	3	TEMPRANA
26	921	Teran	R	S	S	S	S	S	S	R	R	3	MADURAS	6	MEDIA
27	166	Rodeo	S	I	I	R	S	I	S	R	R	6	LONGEVAS	6	MEDIA
28	422	Haimbach	S	S	S	S	S	S	S	S	I		JOVEN		TEMPRANA
29	2449	Haimbach	S	S	I	S	S	S	S	S	I	1	JOVEN	8	TARDIA
30	2158	Haimbach	S	S	S	S	S	S	S	I	S	4	MADURAS	5	MEDIA
31	2345	Haimbach	S	S	S	S	S	S	S	S	I	4	MADURAS	5	MEDIA
32	colina	Haimbach	S	I	S	S	I	S	S	R	I	5	LONGEVAS	7	TARDIA
33	Carola	Haimbach	S	S	S	S	S	S	S	S	I	2	JOVEN	14	TARDIA
34	Chenda	Haimbach	S	S	S	S	I	S	S	S	S	4	MADURAS	13	TARDIA
35	Paola	Moscoso	S	S	S	S	S	S	S	S	S	3	MADURAS	12	TARDIA
36	Estrella	Moscoso	S	I	S	S	S	S	S	S	S	5	LONGEVAS	3	TEMPRANA
37	Clarita	Moscoso	S	I	S	S	I	S	S	S	I	7	LONGEVAS	5	MEDIA
38	508	Larriba	S	S	S	S	S	S	S	S	S	5	LONGEVAS	9	TARDIA
39	1203	Larriba	S	S	S	S	R	S	R	S	I	2	JOVEN	5	MEDIA
40	713	Larriba	S	I	S	S	I	S	S	S	S	5	LONGEVAS	10	TARDIA
41	722	Larriba	S	I	S	S	S	S	I	S	S	5	LONGEVAS	10	TARDIA
42	1115	Larriba	S	S	S	S	R	S	R	S	I	5	LONGEVAS	7	TARDIA
43	Colorada	Larriba	R	I	R	R	R	S	S	S	S	4	MADURAS	5	MEDIA



44	1110	Lariva	S	I	S	S	R	S	S	S	I	2	JOVEN	—	14	TARDIA
45	1274	Pecalpa	R	S	S	R	S	I	S	S	R	5	LONGEVAS		7	TARDIA
46	439	Pecalpa	R	S	S	I	S	S	S	S	R	2	JOVEN		3	TEMPRANA
47	1203	Pecalpa	S	R	S	I	S	S	S	S	R	3	MADURAS		6	MEDIA
48	22	SUSTAG	S	S	S	R	I	S	S	S	S	5	LONGEVAS		14	TARDIA
49	59	Jima 3	S	S	I	S	S	S	S	S	I	5	LONGEVAS		9	TARDIA
50	312	Jima 3	S	S	I	S	S	S	S	S	I	2	JOVEN		14	TARDIA
51	2429	Jima 3	S	S	S	R	S	S	S	S	I	8	LONGEVAS		3	TEMPRANA
52	245	Jima 3	S	S	S	R	S	S	S	R	I	10	LONGEVAS		7	TARDIA
53	413	S Moscoso	S	S	S	S	S	S	S	S	S	5	LONGEVAS		7	TARDIA
54	408	S Moscoso	S	R	I	S	I	R	I	S	I	3	MADURAS		1	TEMPRANA
55	482	Esmeralda	R	S	I	S	S	I	S	I	I	3	MADURAS		7	TARDIA
56	332	Esmeralda	S	S	I	R	I	S	S	I	R	4	MADURAS		5	MEDIA
57	271	Esmeralda	S	R	S	R	I	S	S	S	R	2	JOVEN		9	TARDIA
58	5355	Esmeralda	R	R	I	R	R	S	S	I	I	5	LONGEVAS		3	TEMPRANA
59	5347	Esmeralda	S	R	S	S	S	S	S	S	I	4	MADURAS		5	MEDIA
60	207	Esmeralda	S	I	S	S	S	S	S	S	I	4	MADURAS		3	TEMPRANA
61	8055	Esmeralda	S	S	S	R	S	S	S	S	R	2	JOVEN		12	TARDIA
62	2204	Esmeralda	S	S	S	S	R	S	S	S	I	2	JOVEN		12	TARDIA
63	1231	Esmeralda	R	R	S	R	I	S	S	S	R	4	MADURAS		9	TARDIA
64	2444	Esmeralda	R	I	I	R	S	S	S	S	R	2	JOVEN		7	TARDIA
65	H110	Esmeralda	S	I	S	S	I	S	S	S	I	1	JOVEN		2	TEMPRANA
66	698	Esmeralda	S	S	S	R	S	R	S	S	I	6	LONGEVAS		7	TARDIA
67	444	Esmeralda	S	S	I	S	S	S	S	I	R	2	JOVEN		8	TARDIA
68	446	Esmeralda	R	R	S	R	I	S	S	S	R	3	MADURAS		2	TEMPRANA
69	457	Esmeralda	S	I	I	S	I	S	S	S	R	2	JOVEN		1	TEMPRANA
70	331	Esmeralda	S	S	S	R	I	S	S	I	R	3	MADURAS		9	TARDIA
71	493	Esmeralda	S	R	I	R	I	S	S	S	I	2	JOVEN		4	MEDIA
72	377	Esmeralda	S	S	I	S	S	I	S	S	I	4	MADURAS		11	TARDIA
73	464	Esmeralda	S	S	S	S	R	I	S	S	R	2	JOVEN		8	TARDIA
74	349	Esmeralda	S	I	I	R	I	I	S	S	I	3	MADURAS		11	TARDIA
75	107	Esmeralda	S	I	S	R	I	S	S	S	I	7	LONGEVAS		13	TARDIA
76	159	Esmeralda	S	S	I	R	S	S	S	R	I	7	LONGEVAS		9	TARDIA
77	391	Esmeralda	S	R	I	S	S	S	S	S	R	3	MADURAS		3	TEMPRANA
78	356	Esmeralda	S	S	S	S	S	S	S	S	I	4	MADURAS		11	TARDIA
79	1021	Esmeralda	S	S	I	R	S	S	S	I	I	2	JOVEN		2	TEMPRANA
80	170	Esmeralda	S	R	S	R	R	S	S	S	I	4	MADURAS		12	TARDIA
81	398	Esmeralda	S	S	S	S	S	I	S	S	I	2	JOVEN		13	TARDIA
82	8017	Esmeralda	R	S	S	S	S	S	S	S	I	5	LONGEVAS		14	TARDIA
83	133	Esmeralda	R	R	S	R	I	I	S	S	R	6	LONGEVAS		6	MEDIA

84	463	Esmeralda	S	S	S	S	I	S	S	S	R	2	JOVEN		3	TEMPRANA
85	372	Esmeralda	S	I	I	R	I	S	S	S	R	4	MADURAS		14	TARDIA
86	224	Esmeralda	R	S	S	S	S	S	S	S	I	5	LONGEVAS		4	MEDIA
87	379	Esmeralda	S	S	S	S	S	S	S	S	I	3	MADURAS		2	TEMPRANA
88	2148	Haimbach Tutupali	S	R	R	S	R	S	R	S	I	6	LONGEVAS		5	MEDIA
89	26414	Haimbach Tutupali	S	I	I	S	R	S	I	S	I	4	MADURAS		3	TEMPRANA
90	1028	Haimbach Tutupali	R	I	S	S	I	S	S	S	I	2	JOVEN		2	TEMPRANA
91	89364	Haimbach Tutupali	R	I	S	S	S	S	S	S	I	6	LONGEVAS		1	TEMPRANA
92	447	Haimbach Tutupali	S	I	S	S	S	S	S	S	R	2	JOVEN		2	TEMPRANA
93	97492	Haimbach Tutupali	S	R	S	S	S	S	S	S	R	5	LONGEVAS		1	TEMPRANA
94	323	Haimbach Tutupali	R	R	S	S	I	S	S	S	R	8	LONGEVAS		2	TEMPRANA
95	2324	Haimbach Tutupali	S	S	I	S	S	S	S	R	R	12	LONGEVAS		2	TEMPRANA
96	2083	Haimbach Tutupali	S	R	S	S	I	S	S	I	R	5	LONGEVAS		12	TARDIA
97	MELIZA 168	Haimbach Tutupali	S	R	S	S	S	S	S	I	R	3	MADURAS		9	TARDIA
98	2234	Haimbach Tutupali	S	R	S	S	S	S	S	S	R	4	MADURAS		8	TARDIA
99	8N404	Haimbach Tutupali	S	R	S	I	I	S	S	S	I	6	LONGEVAS		7	TARDIA
100	2506	Haimbach Tutupali	R	R	S	S	I	S	S	S	I	1	JOVEN		7	TARDIA
101	93397	Haimbach Tutupali	S	R	I	S	I	S	S	S	I	5	LONGEVAS		13	TARDIA
102	9N451	Haimbach Tutupali	R	R	S	S	S	S	S	S	R	4	MADURAS		9	TARDIA
103	ANDREA	Haimbach Tutupali	S	R	S	S	S	S	S	S	I	8	LONGEVAS		14	TARDIA
104	8507	Haimbach Tutupali	S	R	S	S	S	S	S	S	I	4	MADURAS		4	MEDIA
105	2488	Haimbach Tutupali	S	R	S	S	S	S	S	S	I	4	MADURAS		7	TARDIA
106	978	Haimbach Tutupali	S	I	S	S	S	S	S	S	I	3	MADURAS		4	MEDIA
107	2134	Haimbach Tutupali	S	I	S	S	I	S	S	S	I	5	LONGEVAS		12	TARDIA
108	2382	Haimbach Tutupali	S	I	I	S	S	S	S	I	R	2	JOVEN		13	TARDIA
109	338	Haimbach Tutupali	R	R	I	S	S	S	S	S	R	8	LONGEVAS		9	TARDIA
110	27587	Haimbach Tutupali	S	R	S	S	S	S	S	S	R	2	JOVEN		5	MEDIA
111	2458	Haimbach Tutupali	S	R	S	S	S	S	S	S	R	1	JOVEN		12	TARDIA
112	10561	Haimbach Tutupali	R	R	S	S	S	S	S	S	R	2	JOVEN		9	TARDIA
113	13533	Haimbach Tutupali	S	R	S	S	I	S	S	S	R	3	MADURAS		5	MEDIA
114	2159	Haimbach Tutupali	S	R	S	S	R	S	S	I	I	6	LONGEVAS		1	TEMPRANA
115	2139	Haimbach Tutupali	S	I	S	S	I	S	S	S	I	5	LONGEVAS		3	TEMPRANA
116	2216	Haimbach Tutupali	S	R	I	S	I	S	S	S	R	4	MADURAS		5	MEDIA
117	2453	Haimbach Tutupali	S	R	S	R	I	S	S	S	R	2	JOVEN		2	TEMPRANA
118	1628	Haimbach Tutupali	R	R	S	S	I	S	S	S	R	3	MADURAS		8	TARDIA
119	2070	Haimbach Tutupali	S	R	S	S	S	S	S	S	R	4	MADURAS		14	TARDIA
120	528	Haimbach Tutupali	S	I	S	S	S	S	S	S	R	5	LONGEVAS		13	TARDIA
121	337	Haimbach Tutupali	R	R	S	I	I	I	S	S	I	8	LONGEVAS		12	TARDIA
122	74299	Haimbach Tutupali	R	R	S	S	S	S	S	S	I	7	LONGEVAS		7	TARDIA

**SIMBOLOGÍA****P: Penicilina****TE: Tetraciclina****K: Kanamicina****Cl: Cefalexina****SXT: Sulfa mas trimetropin****AMC: Amoxicilina más ácido clavulanico.****S: Estreptomicina****CX: Cloxacilina****E: Eritromicina.****R: Resistencia****S: Sensibilidad****I: Intermedio**

### Niveles de resistencia.

Los niveles de resistencia, Del total de muestras; 112 representan el 91,8% tienen resistencia baja, 10 muestras resistencia media que representa 8,2%; cabe mencionar que no se encontró resistencia nula y multi-resistente. (Ver anexos 1-9).

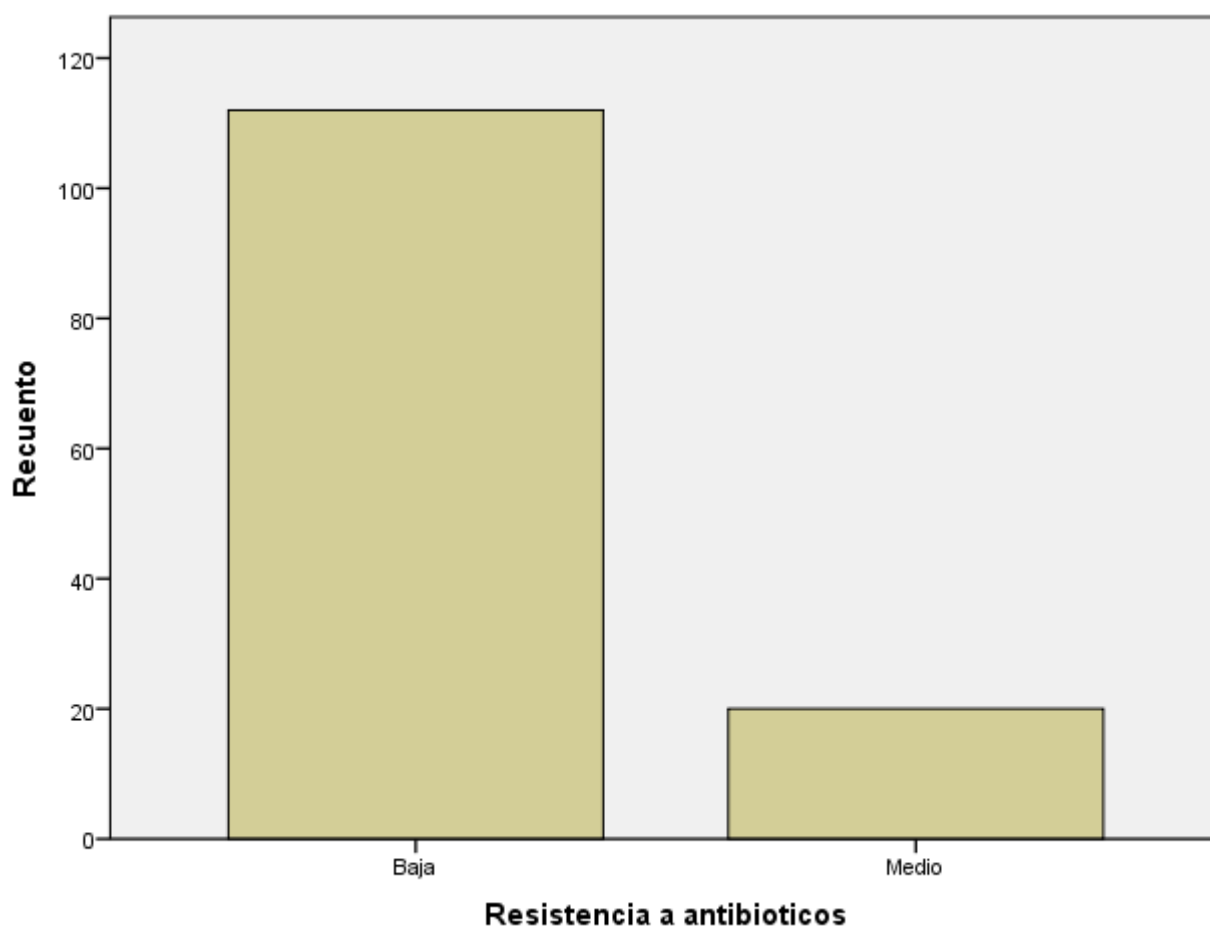
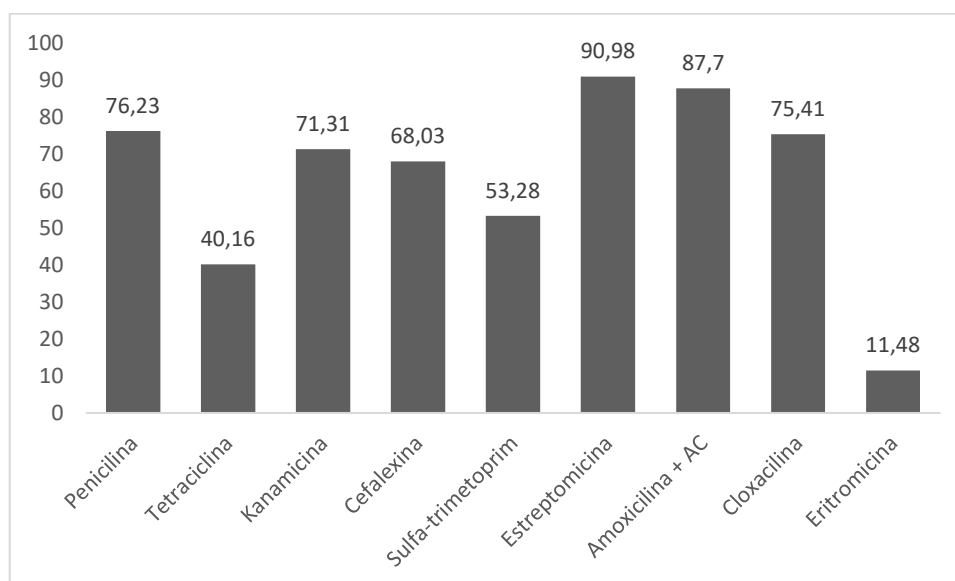


Figura 2. Porcentajes de niveles de resistencia.

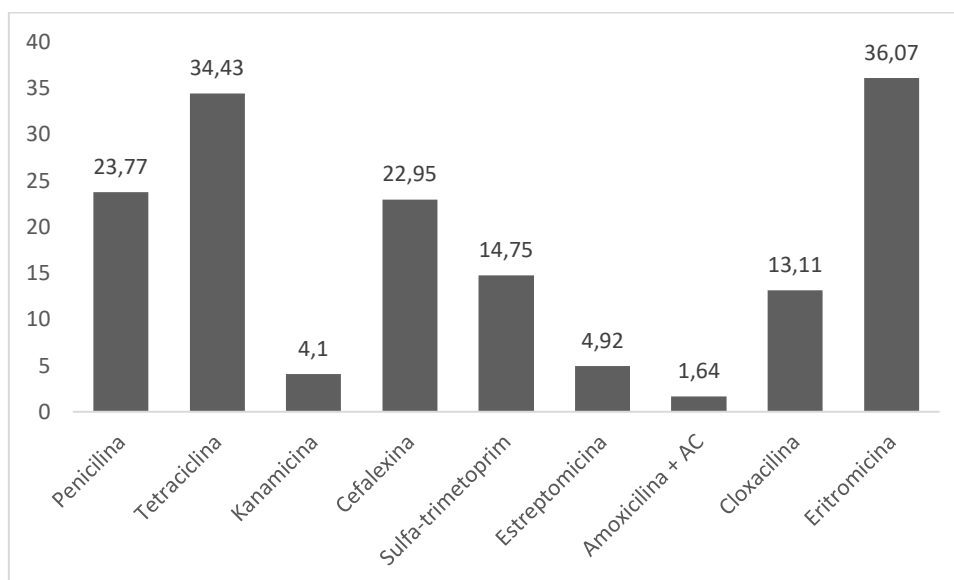
**Cuadro 5.** Antibiógrama en porcentajes de aislados de *S. aureus* de mastitis bovina.

Antibiótico	Susceptibilidad		
	Sensible	Intermedio	Resistente
Penicilina	76,23	0	23,77
Tetraciclina	40,16	25,41	34,43
Kanamicina	71,31	24,59	4,10
Cefalexina	68,03	9,02	22,95
Sulfa-trimetoprim	53,28	31,97	14,75
Estreptomicina	90,98	4,10	4,92
Amoxicilina + AC	87,70	10,66	1,64
Cloxacilina	75,41	11,48	13,11
Eritromicina	11,48	52,46	36,07



**Figura 3** Resultados porcentuales de sensibilidad del antibiógrama.

Los antibióticos que presentan mayor sensibilidad fueron: estreptomicina, amoxicilina más ácido clavulánico, penicilina y cloxacilina.



**Figura 4** Resultados porcentuales de resistencia del antibiograma

Los antibióticos que presentan mayor resistencia fueron: Eritromicina, tetraciclina, penicilina. (Anexos 1-9)

**Cuadro 6** Regresión logística para las variables resistencia a antibióticos en razón al periodo de lactancia y número de lactancias.

	B	Error estándar	Wald	gl	Sig.	Exp(B)
Periodo de lactancia			5,073	2	,079	
Periodo de lactancia(1)	2,404	1,119	4,618	1	,032	11,071
Periodo de lactancia(2)	2,422	1,145	4,474	1	,034	11,273
Constante	- 4,127	1,008	16,763	1	,000	,016

El periodo de lactancia es el factor que se asocia con mayor fuerza a la resistencia antibiótica; por tanto, las vacas con lactancias extendidas presentarán mayor resistencia a antibióticos.



**Cuadro 6.** *Análisis de Chi cuadrado susceptibilidad a Penicilina G en asociación a número de lactancias tabulación cruzada*

		Numero de lactancias			Total
		Joven	Maduras	Longevas	
Susceptibilidad a Penicilina G	Sensible	25	31	37	93
	Resistente	8	7	14	29
Total		33	38	51	122

Se obtuvo una probabilidad de  $P=0,985^a$  mediante la prueba de Chi-cuadrado (anexo 10) lo que nos indica no existe asociación de la penicilina G y numero de lactancias.

**Cuadro 7** *Asociación entre resistencia y periodo de lactancia tabulación cruzada.*

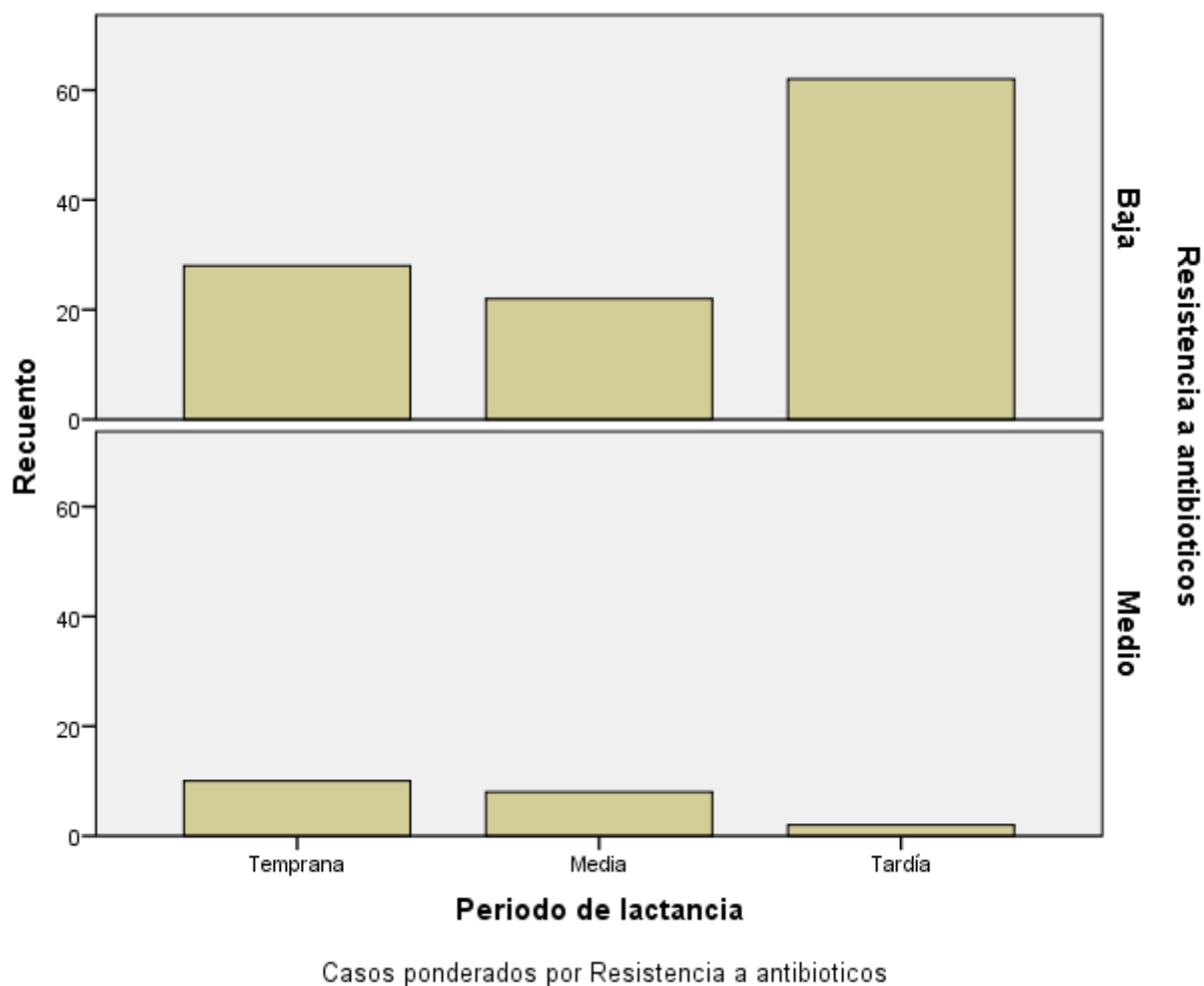
		Periodo de lactancia			Total
		Temprana	Media	Tardía	
Resistencia a antibióticos	Baja	28	22	62	112
	Media	5	4	1	10
Total		33	26	63	122

Mediante la prueba de Chi-cuadrado (anexo 11), se determinó que hay asociación entre las variables de resistencia a antibióticos y el periodo de lactancia. El valor de  $p=0,023$  indica que la asociación es estadísticamente significativa.

**Cuadro 8** *Asociación número de lactancias y resistencia bacteriana tabulación cruzada*

		Numero de lactancias			Total
		Joven	Maduras	Longevas	
Resistencia dicotómica	nula-baja	33	35	44	112
	media-alta	0	3	7	10
Total		33	38	51	122

Se obtuvo una probabilidad de valor de significación 0,081 mediante la prueba de Chi-cuadrado (anexo 12) determina no hay asociación entre las variables resistencia a antibióticos y número de lactancias.



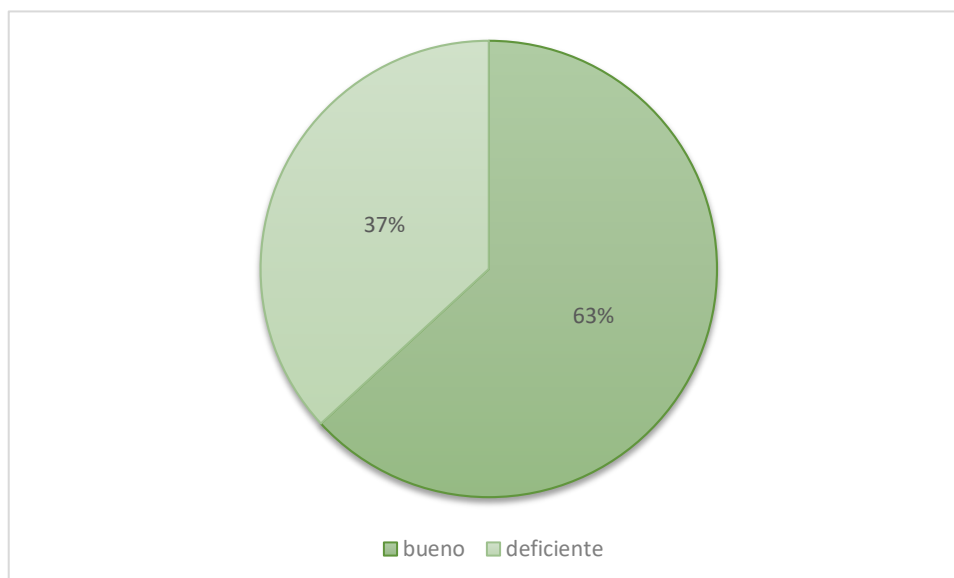
**Figura 5.** Resistencia bacteriana dependiendo periodo de lactancia..

Resistencia bacteriana dependiendo periodo de lactancia; temprana, media y tardía como observamos en el grafico la mayoría de muestras tienen resistencia baja. El valor de Chi-cuadrado 0,23 (anexo 11) 0,23 es significativa por lo que lactancias prolongadas existe mayor riesgo de resistencia.

**Cuadro 9** Asociación de resistencia bacteriana y tabulación cruzada manejo preventivo.

			Manejo preventivo		Total
			Bueno	Deficiente	
Resistencia dicotómica	nula-baja	Recuento	97 <sub>a</sub>	15 <sub>a</sub>	112
		% dentro de Manejo preventivo	92,4%	88,2%	91,8%
	media-alta	Recuento	8 <sub>a</sub>	2 <sub>a</sub>	10
		% dentro de Manejo preventivo	7,6%	11,8%	8,2%
Total	Recuento		105	17	122
	% dentro de Manejo preventivo		100,0%	100,0%	100,0%

No existe relación entre manejo preventivo y resistencia bacteriana lo que se comprueba al estudiar la asociación por Chi-cuadrado (anexo 13) y por la regresión logística en ningún caso hubo diferencias significativas.



**Figura 6.** Predios con manejo preventivo bueno y deficiente.

## 6. DISCUSIÓN

En este estudio las cepas de *S aureus* aisladas de vacas con mastitis presentaron características de susceptibilidad similares a otros trabajos citados a continuación. La estreptomomicina es el antibiótico al que se presenta mayor susceptibilidad (90,98% de las muestras). Otros estudios presentan porcentajes similares, 92,85% (Paiva, 2014), y el 61,7% (Bani & Alekish, 2015), en otros casos los porcentajes son inferiores, 20,6% (Ferrari, et al., 2011), 16,66% (Ikiz, et al., 2013). El 36,07 % de las cepas aisladas presentaron resistencia a eritromicina, similar a los resultados de Ferrari, y otros, (2011) con 36,5%. La penicilina G, amoxicilina y cloxacilina presentaron altos porcentajes de sensibilidad 76,23%, 87,70% y 75,41% respectivamente, con hallazgos similares 84,5% (Bani & Alekish, 2015), 75% (Ikiz, et al., 2013), para penicilina G el rango de susceptibilidad en los distintos estudios citados fue entre 22% y el 57%, presentando gran variabilidad según la región (Paiva, 2014); evidenciando la susceptibilidad es un factor que varía notablemente de acuerdo a la región geográfica.

La resistencia fue diferente en las vacas según los días en lactancia; resistencia baja: temprana 73,7%, media 73,3% y tardía con un 96,9%; media: temprana 26,3%, media 26,7% y tardía 3,1% esto indica que según aumentan los días en lactancia, aumenta la presencia de bacterias resistentes a los antibióticos, posiblemente debido a que durante lactancias más largas es más probable la infección, tratamiento antibiótico y el desarrollo de cepas resistentes concordando con Bruno et al., (2011).

No se presentaron diferencias significativas en la resistencia antibiótica según el manejo preventivo y terapéutico de la mastitis en los hatos estudiados, esto se debe posiblemente a la imposibilidad de hacer un seguimiento y la dificultad de obtener información sobre la terapéutica antibiótica, protocolos y registros.

Antibióticos como la penicilina G, que por su uso durante décadas han sido considerados como ineficaces en la terapéutica de diferentes



---

enfermedades, han presentado una significativa eficacia *in vitro* para el control de *S aureus* en este estudio, posiblemente la ineficacia terapéutica podría ser el resultado de la sub-dosificación, en relación a dosis y tiempo de tratamiento así como al uso de fórmulas de larga acción y extra rótulo que no alcanzan concentraciones terapéuticas ideales.

En el Cuadro 13 se pueden observar los porcentajes de resistencia y sensibilidad para todos los antibióticos utilizados en este estudio en comparación con los hallazgos de otros trabajos.

**Cuadro 10.** Comparación de susceptibilidad frente a otros autores

Antibiótico	Autor	Sensible	Intermedio	Resistente
Penicilina	<b>(Argudo, 2016)</b>	<b>76,23</b>	<b>0</b>	<b>23,77</b>
	(Chandrasekaran 2014)	63,5		
	(Débora, 2014)	32,65	0	67,35
	(Pellegrino 2011)			14,3
	(Saini, 2012)			35,4
	(Gutierrez, 2014)	83	0	31
Tetraciclina	<b>(Argudo, 2016)</b>	<b>40,16</b>	<b>25,41</b>	<b>34,43</b>
	(Débora, 2014)	40,80	8,15	51,05
	(Saini, 2012)			8,8
	(Gutiérrez, 2014)	97	0	17
Kanamicina	(Argudo, 2016)	<b>71,31</b>	<b>24,59</b>	<b>4,10</b>
	(Gutiérrez, 2014)	79	21	0
Cefalexina	<b>(Argudo, 2016)</b>	<b>68,28</b>	<b>9,02</b>	<b>22,95</b>
	(Débora, 2014)	77,55	0,00	22,45
Sulfa más trimetropin	<b>(Argudo, 2016)</b>	<b>53,28</b>	<b>31,97</b>	<b>14,75</b>
	(İkiz2013)	58,33		
	(Gutierrez, 2014)	83	14	24
Amoxicilina mas ácido clavulónico	<b>(Argudo, 2016)</b>	<b>87,70</b>	<b>10,66</b>	<b>1,64</b>
	(İkiz et al., 2013)	16,66		
Estreptomicina	<b>(Argudo, 2016)</b>	<b>90,98</b>	<b>4,10</b>	<b>4,92</b>
	(Débora, 2014)	92,85%,		
	(Alekish, n.d.)	61,7%		
	(Pellegrino et al., 2011)	20,6%		
	(İkiz et al., 2013)	16,66%		
Cloxaciclina	<b>(Argudo, 2016)</b>	<b>75,41</b>	<b>11,48</b>	<b>13,11</b>
Eritromicina	<b>(Argudo, 2016)</b>	<b>11,48</b>	<b>52,46</b>	<b>36,07</b>
	Pellegrino y colaboradores	36,5		
	(İkiz et al., 2013)	33,33		
	(Débora, 2014)	73,45	14,30	12,25
	(Pellegrino et al., 2011)			22,2
	(Saini, 2012)			5
	(Gutierrez, 2014)	45	55	0

---

## 7. CONCLUSIONES

Una vez terminada la investigación se concluye lo siguiente:

- De las 218 muestras analizadas 122 fueron *S. aureus* que representan un 56% mientras que otras bacterias o muestras sin crecimiento 96 que representan un 44%.
- En los 122 aislados de *S aureus*, los antibióticos con mayor susceptibilidad fueron: estreptomicina, amoxicilina más ácido clavulánico, cloxacilina, penicilina y kanamicina;
- Los de mayor resistencia fueron: eritromicina, tetraciclina, penicilina y cefalexina
- Cómo factor del hospedero; tenemos al periodo de lactancia; mientras las lactancias sean extendidas el riesgo de resistencia antibiótica es mayor.
- No existe relación entre el manejo preventivo y terapéutico con la resistencia bacteriana.

---

## 8. RECOMENDACIONES

Es necesario evaluar la resistencia de *S aureus* en relación al tiempo para poder valorar cual es el comportamiento de las cepas resistentes en un periodo determinado.

El grave problema de salud pública que implica la aparición de cepas bacterianas multiresistentes a los antibióticos, es necesario implementar constantemente el uso de estudios microbiológicos para la identificación de agentes infecciosos y para tomar decisiones terapéuticas adecuadas. Así también estudios *in-vivo* para poder evaluar parámetros farmacológicos como farmacodinamia y farmacocinética.

El manejo preventivo de la mastitis es la principal herramienta para reducir la aparición de cepas resistentes a los antibióticos, por tanto, el uso de registros para el historial de mastitis es fundamental para el manejo terapéutico y el descarte de animales con infecciones crónicas.

Efectuar investigaciones con terapias alternativas que tengan sinergismo o potencialicen la terapia antibiótica como; ozonoterapia y propóleo para evitar resistencia bacteriana.





---

## 9. BIBLIOGRAFÍA.

### Artículos científicos de páginas web.

1. Agencia Nacional de Regulación, Control y Vigilancia Sanitaria. (2015). Recuperado el octubre de 2016, de Reacciones Adversas a Medicamentos (RAM): <http://www.controlsanitario.gob.ec/reaccionesadversasamedicamentos>
2. Almaw, Zerihun, & Asfaw. (2007). Bovine mastitis and its association with selected risk factors in smallholder dairy farms in and around Bahir Dar, Ethiopia.
3. Alós, J. (10 de diciembre de 2015). Resistencia bacteriana a los antibióticos: una crisis global. *Elsevier*, 33(10), 692-699.
4. Andresen, H. (2001). Vacas secas y en transición. *Rev Inv Vet Perú*, 12(2).
5. Archer, N. K., Mazaitis, M. J., Costerton, W., Leid, J. G., & Shirtliff, M. E. (2011). Staphylococcus aureus biofilms. *PMC*, 445-459.
6. Azocar, I. E. (2012). *Universidad Austral de Chile*. Recuperado el 08 de 09 de 2015, de [cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2012/fcr696e/doc/fcr696e.pdf](http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2012/fcr696e/doc/fcr696e.pdf)
7. Bani, Z., & Alekish, O. (2015). Recuperado el octubre de 2016, de Hematology and serum biochemistry analyses in Awassi sheep affected with clinical and subclinical mastitis caused by Staphylococcus aureus and antimicrobial sensitivity patterns of the isolated bacterial strains: <http://www.abah.bioflux.com.ro/docs/2015.202-207.pdf>



8. Bedolla, C. (abril de 2008). Pérdidas económicas ocasionadas por la mastitis bovina en la industria lechera. *REDVET, Revista Electrónica de Veterinaria*, 9(4), 1-26.
9. Bedolla, C., Castañeda, V., & Wolter, W. (2007). Metodos de deteccion de mastitis bovina. *REDVET*.
10. Betancor, L., Gadea, P., & Flores, K. (2008). *Genética Bacteriana*. Montevideo (Uruguay): Instituto de Higiene, Facultad de Medicina.
11. Bruno, R., Hagevoort, R., Lager, K., Pinedo, P., & Bruno, D. (2011). Comprendiendo la Mastitis en vacas lecheras. *TVMDL Texas AgriLife Extension Service*.
12. Bush, L. M., & Schmidt, C. E. (2010). Infecciones por *Staphylococcus aureus*. *Manual MSD*.
13. Calle, J. (2014). Recuperado el octubre de 2016, de Copy of Copy of PCR Tradicional y el PCR en Tiempo Real para detección de virus: [https://prezi.com/ac7t\\_yyswgiz/copy-of-copy-of-pcr-tradicional-y-pcr-en-tiempo-real-para-deteccion-de-virus/](https://prezi.com/ac7t_yyswgiz/copy-of-copy-of-pcr-tradicional-y-pcr-en-tiempo-real-para-deteccion-de-virus/)
14. Camussonea, C., & Calvino, L. (5 de abril de 2013). Factores de virulencia de *Staphylococcus aureus* asociados con infecciones mamarias en bovinos: relevancia y rol como agentes inmunológicos. *Scielo*, 42(5), 1-12. Recuperado el 31 de 07 de 2015, de <http://www.scielo.org.ar/pdf/ram/v45n2/v45n2a11.pdf>
15. Castañón, C. (julio-septiembre de 2012). Patogenia Molecular de *Staphylococcus aureus*. *Evidencia Médica de Bienestar y Salud*, 5(3), 77-84.



16. Chans, G. R. (2007). Estafilococos. *Instituto de Higiene*.
17. Chavalgoity, J., Pereira, M., & Rial, A. (2008). *Inmunidad contra los agentes infecciosos*. Montevideo (Uruguay): Instituto de Higiene.  
Recuperado el octubre de 2016, de <http://www.higiene.edu.uy/cefa/2008/Inmunidadcontralosagentesinfecciosos.pdf>
18. Concha, C. (2009). *Perspectivas de estimulación de la respuesta inmune de la glándula mamaria bovina*. Santiago (Chile): Universidad de Chile. Recuperado el octubre de 2016, de perspectivas de estimulación de la respuesta inmune de la glándula mamaria bovina: <http://www.aprocal.com.ar/wp-content/uploads/perspectivas.htm.pdf>
19. Di Conza, J., & Gutkind, D. (2010). Integrones: los coleccionistas de genes. *Rev. Argent. Microbiol*, 42.
20. Duré, A. (2011). Evaluación de la expresión de TLR2 e IL-1 $\alpha$  en glándula mamaria murina infectada Evaluación de la expresión de TLR2 e IL-1 $\alpha$  en glándula mamaria murina infectada experimentalmente con dos cepas de *Staphylococcus aureus* de origen bovino con características cl. UNL, (págs. 1-4).
21. Durich, J. O. (2000). Resistencia Bacteriana a los antibioticos. *Elseiver*.
22. Escobal, I., Esnal, A., & García, M. (2005). *Mamitis en ganado vacuno*.  
Recuperado el octubre de 2016, de Mamitis en ganado vacuno: [http://www.analiticaveterinaria.com/pdf/mamitis\\_contagiosas\\_ganado\\_vacuno.pdf](http://www.analiticaveterinaria.com/pdf/mamitis_contagiosas_ganado_vacuno.pdf)



- 
23. Fernández, G., Lago, N., Barreal, M., Pombo, M., & González, J. (4 de noviembre de 2013). *Antibiograma y resistencias en mastitis bovina*. Recuperado el octubre de 2016, de Albeitar PV: <http://albeitar.portalveterinaria.com/noticia/11395/articulos-rumiantes-archivo/antibiograma-y-resistencias-en-mastitis-bovina.html>
24. Fernández, O., Trujillo, J., Cerquera, J., & Granja, Y. (2012). Mastitis Bovina: generalidades y métodos de diagnóstico/ Bovine Mastitis: general and diagnostic methods. *REDVET, Revista Electrónica de Veterinaria*, 13(11), 1-20.
25. Ferrari, G., Korber, B., Goonetilleke, N., Liu, M., Turnbull, E., Salazar, J., . . . PellegrinO, P. (2011). Recuperado el octubre de 2016, de Relationship between Functional Profile of HIV-1 Specific CD8 T Cells and Epitope Variability with the Selection of Escape Mutants in Acute HIV-1 Infection: <http://journals.plos.org/plospathogens/article?id=10.1371/journal.ppat.1001273>
26. García, P., & Campos, J. P. (2006). Causas e impacto clínico de la desnutrición y caquexia en el paciente oncológico. *Scielo*, 21(3).
27. Gasque, R. (2008). *Enciclopedia bovina* (Primera edición ed.). México D.F.: UNAM.
28. Glauber, C. E. (2007). Fisiología de la lactacion en la vaca lechera. *Produccionanimal*.
29. Gomez, J., Elisa, G., & Alicia, H. (2015). betalactamicos en la practica clinica.



30. Gomez, R. G. (2008). Mastitis bovina . En R. G. Gomez, *Enciclopedia Bovina*. Mexico.
31. Guízar, P., & Ignacio, J. (octubre de 2008). Determinación de la prevalencia de mastitis bovina en el municipio de Tarímbaro, Michoacán, mediante la prueba de California. *REDVET, Revista Electrónica de Veterinaria*, 9(10).
32. Hans, A. (2001). Mastitis: prevención y control. *Rev Inv Vet Perú*, 12(2), 55-64.
33. Hendry, D., & Richard, J. (2000). exogenous variable. *Cambridgeuniversity*.
34. Hernadez, O., Ulloa, Y., Mendez, D., & Maria., G. (2005). Staphylococcus aureus y su identificación en los laboratorios microbiológicos. Revisión bibliográfica. *Redalyc*, 9(1), 1-11.
35. Horst Erich König, H.-G. L. (2008). *Anatomía de los animales domésticos: texto y atlas en color* (Segunda ed., Vol. II). (H.-G. L. Horst Erich König, Ed.) Madrid, España: Ed. Médica Panamericana, 2005.  
Obtenido de [https://books.google.com.ec/books?id=\\_1OEdvC5a98C&pg=PA309&dq=anatomia+del+oido+canino&hl=es-419&sa=X&ved=0CBwQ6AEwAGoVChMlo9nAlvnbxwIVQ9YeCh0m2QhT#v=onepage&q=anatomia%20del%20oido%20canino&f=false](https://books.google.com.ec/books?id=_1OEdvC5a98C&pg=PA309&dq=anatomia+del+oido+canino&hl=es-419&sa=X&ved=0CBwQ6AEwAGoVChMlo9nAlvnbxwIVQ9YeCh0m2QhT#v=onepage&q=anatomia%20del%20oido%20canino&f=false)
36. Ikiz, S., Basaran, B., Bingol, E., Cetin, O., Kasikci, G., Ozgur, N., . . . Sabuncu, A. (2013). Recuperado el octubre de 2016, de Presence and antibiotic susceptibility patterns of contagious mastitis agents



- (*Staphylococcus aureus* and *Streptococcus agalactiae*) isolated from milks of dairy cows with subclinical mastitis: <http://journals.tubitak.gov.tr/veterinary/issues/vet-13-37-5/vet-37-5-15-1302-63.pdf>
37. Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas de Argentina. (2015). *DEPARTAMENTO DE VIROLOGÍA*. Buenos Aires (Argentina): Ministerio de Salud y Acción Social.
38. Iñaez, E. (30 de diciembre de 1998). *hipertestos del area de Biología*. Recuperado el octubre de 2016, de Variaciones hereditarias no asociadas cn transferencia de material genético. Mutación. Supresión: [http://www.biologia.edu.ar/microgeneral/micro-ianez/23\\_micro.htm](http://www.biologia.edu.ar/microgeneral/micro-ianez/23_micro.htm)
39. Kourí, P. (2014). Mecanismos de resistencia a betalactámicos. *Scielo*.
40. Laguna, A. (2014). Los sistemas de defensa de la glándula mamaria y factores que la favorecen. *13° Congreso Internacional de Médicos Veterinarios Zootecnistas Especialistas en Bovinos de la Comarca Lagunera*. Comarca Lagunera.
41. Lopez, M. (2014). Mastitis bovina ; patologia y manifestaciones clinicas. *Ciencia Veterinaria*.
42. Mainardi, J. (2010). Mécanismes d'action et de résistance. *Paris Quest*.
43. Malbran, C. (2015). *Resistencia a los antimicrobianos: causas, consecuencias y perspectivas en Argentina*. Secretaría de Promoción y Programas Sanitarios, Ministerio de Salud de la Nación, Servicio Antimicrobianos, Laboratorio Nacional de Referencia en Antimicrobianos, Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas.



Buenos Aires (Argentina): Secretaría de Promoción y Programas Sanitarios, Ministerio de Salud de la Nación.

44. Meglia, G., & Mata, H. (2001). *Mecanismos Específicos e Inespecíficos de defensa, con referencia a la glándula mamaria de los bovinos productores de leche*. UNLPam, Facultad de Ciencias Veterinarias. La Pampa (Argentina): Universidad Nacional de la Pampa.
45. Mora, B., Aquino, E., & Alexis, C. (2007). *Respuesta Inmunitaria*. Corrientes (Argentina): Facultad de Medicina UNNE.
46. Mosquito, S., Joaquim, R., Bauer, J., & Teresa, O. (2011). Mecanismos moleculares asociados a resistencia. *Scielo*.
47. Nickerson, S. (2011). Recuperado el octubre de 2016, de Terapia antibiótica durante la lactancia y al secado: [http://www.aprocal.com.ar/wp-content/uploads/terapia\\_antibiotica.htm.pdf](http://www.aprocal.com.ar/wp-content/uploads/terapia_antibiotica.htm.pdf)
48. NMC. (2010). Recuperado el octubre de 2016, de Preguntas sobre calidad de la leche: <http://www.nmconline.org/transl/elLecheroDryTreat.pdf>
49. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. (2004). *Uso de antimicrobianos en animales de consumo*. Organización de las Naciones Unidas, FAO. Roma (Italia): FAO.
50. Organización Mundial de la Salud. (septiembre de 2016). *Resistencia a los antimicrobianos*. Recuperado el octubre de 2016, de Centro de Prensa: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs194/es/>



- 
51. Paiva, D. (2014). *Staphylococcus aureus en queso blanco fresco y su relación C*. Recuperado el octubre de 2016, de Staphylococcus aureus en queso blanco fresco y su relación C: <https://prezi.com/tkbsdspxm4jsa/staphylococcus-aureus-en-queso-blanco-fresco-y-su-relacion-c/>
52. Pedrique, M. (2002). Antibiograma.
53. Pérez, D. (1998). Resistencia bacteriana a antimicrobianos: su importancia en la toma de decisiones en la práctica diaria. *Información Terapéutica del Sistema Nacional de Salud*, 22(3), 57-67. Recuperado el 2016, de Resistencia microbiana a antimicrobianos: su importancia en la toma de decisiones en la práctica diaria: <http://www.msssi.gob.es/biblioPublic/publicaciones/docs/bacterias.pdf>
54. Perez, H., & Atzin, R. (2013). aspectos basicos de resistencia bacteriana. *revista medica*.
55. Petersson, C., Mullarky, I., & Jones, G. (11 de Junio de 2010). *Virginia University*. Recuperado el 12 de 09 de 2015, de Staphylococcus aureus Mastitis: Cause, Detection, and Control: <https://pubs.ext.vt.edu/404/404-229/404-229.html>
56. Porras, A., & Páramo, R. (2009). *Manual de prácticas de reproducción animal*. Informe, UNAM, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, México, D.F.
57. Quizphe, A., Encalada, L., Sacoto, A., Andrade, D., & Muñoz, G. (2014). Uso apropiado de antibioticos y resistencia bacteriana. *React*.
-





58. Rafael, C. (2010). Enfermedades infecciosas y microbiología clínica. *Elseiver*.
59. Ramírez, N. (2013). *Determinación de factores de riesgo y etiología microbiana de la mastitis bovina en hatos lecheros de seis municipios del altiplano norte antioqueño, 2009-2010*. Universidad de Antioquia, Facultad de Ciencias Agrarias. Medellín (Colombia): Universidad de Antioquia.
60. Rodríguez, M., González, J., Barreto, J., Alonso, N., Areu, A., & Pardo, A. (1998). Tetraciclinas. *Acta Médica*, 8(1).
61. Rodríguez, R. (2007). Recuperado el octubre de 2016, de Mastitis: <http://www.juntadeandalucia.es/servicioandaluzdesalud/hinmaculada/web/servicios/tcg/documentos/Protocolos/Para%20Medicos%20A.P/Mastitis.pdf>
62. Santos, A., Oliveira, D., De Freitas, C., Alves, B., & Alfonso, I. (diciembre de 2007). Staphylococcus aureus: visitando uma cepa de importancia hospitalar. *Scielo*, 43(6).
63. Scaramelli, A., & Gonzalez, Z. (2005). Epizootiología y diagnóstico de la mastitis bovina. *Scielo Colombia*, 14(2), 328-334.
64. Sussmann, A., Mattos, L., & Restrepo, A. (2011). Recuperado el octubre de 2016, de Resistencia bacteriana: <http://med.javeriana.edu.co/publi/vniversitas/serial/v43n1/0026%20Resistencia.PDF>
65. The International Dairy Federation. (2016). *Mastitis bovina*. Obtenido de <http://www.fil-idf.org/>



66. Vignoli, L., & Seija, V. (2000). Principales mecanismos de resistencia antibiotica. *higiene.edu*.
67. Villasmil, Y., & Aranguren, J. (2005). Recuperado el octubre de 2016, de Identificación animal y registros ganaderos: [http://www.avpa.ula.ve/docuPDFs/libros\\_online/manual-ganaderia/seccion2/articulo12-s2.pdf](http://www.avpa.ula.ve/docuPDFs/libros_online/manual-ganaderia/seccion2/articulo12-s2.pdf)
68. Wolter, W., Castañeda, V., Kloppert, B., & Zschoeck, M. (2004). *La mastitis bovina*. Informe, Hesse-Universidad de Guadalajara, I.E.I. Hesse-Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Germany, Guadalajara.

#### **Tesis.**

1. Acuña, V., & Rivadeneira, A. (2008). *Aislamiento Identificación y antibiograma de agentes causantes de Mastitis en ganaderías bovinas de la provincia de Pichincha*. Sangolquí: Escuela Politécnica del Ejercito, Departamento de Ciencias de la Vida.
2. Alvarado, P. (2006). *INCIDENCIA DE LA MASTITIS SUBCLINICA, EN EL SECTOR DESCANSO*. Cuenca: Universidad del Azuay.
3. Avila, S., & Romero, L. (2001). *Anatomía y Fisiología de la Glándula Mamaria*. Tesis, UNAM, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, México.
4. Espinoza, M. G., & Mier, J. (2013). *Determinación de la prevalencia de Mastitis mediante la prueba California Mastitis Test e identificación de antibiograma del agente causal en ganadería*



*lecheras del cantón El Chaco, provincia del Napo.* Universidad Central del Ecuador, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Quito: Universidad Central del Ecuador, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.

5. Farinango, Á. (2015). *Prevalencia de Mastitis bovina mediante la prueba d California Matitis Test con identificación del agente etiológico, en el centro de acopio de leche de la comunidad de Pulisa, Cayambe, Ecuador, 2014.* Universidad Politécnica Salesiana, Ingeniería Agropecuaria. Quito: Universidad Politécnica Salesiana.
6. Salvador, J., & Peñafiel, J. (2011). *Determinación de la incidencia de Mastitis Subclínica mediante los métodos California Mastitis Test (CMT) y Somaticell en cinco ganaderías del cantón Vibces, provincia de Los Ríos.* Universidad Católica de Santiago de Guayaquil, Facultad de Educación Técnica para el Desarrollo. Guayaquil: Universidad Católica de Santiago de Guayaquil.

### **Libros**

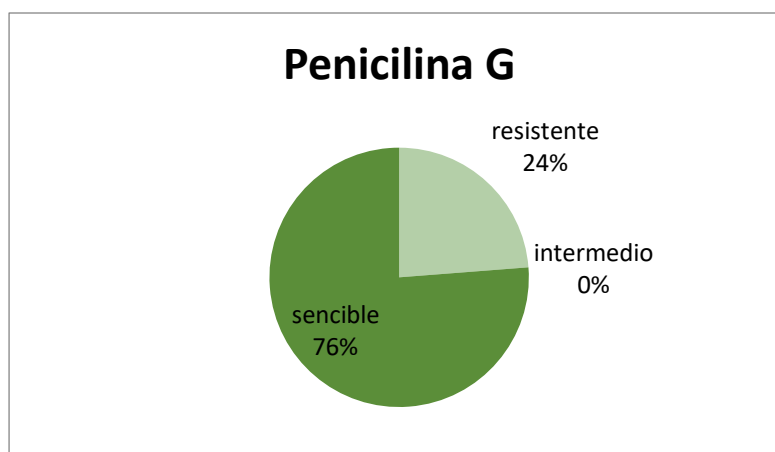
1. Sumano, H., & Ocampo, L. (2006). *Farmacología Veterinaria* (Tercera edición ed.). México, D.F.: McGraw-Hill Interamericana. Obtenido de Farmacología Veterinaria.
2. Zendejas, G. A., & Soto, M. (2014). Microbiología general del *Staphylococcus aureus*: Generalidades, patogenecidad y métodos de identificación. *Biomed*, 25, 129-143.

## 10. ANEXOS

### Resultados de susceptibilidad por antibiótico

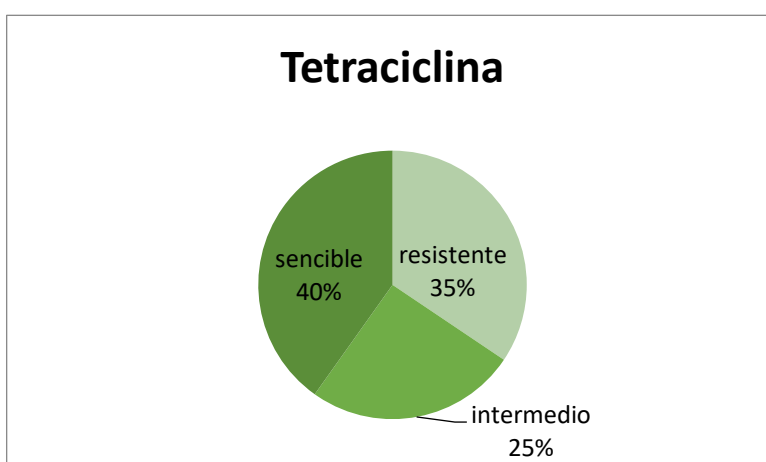
#### Anexo 1 Susceptibilidad a Penicilina G

De acuerdo al análisis del antibiograma el 76% de las muestras son sensibles a penicilina G: no presentan susceptibilidad media y el 24% son resistentes



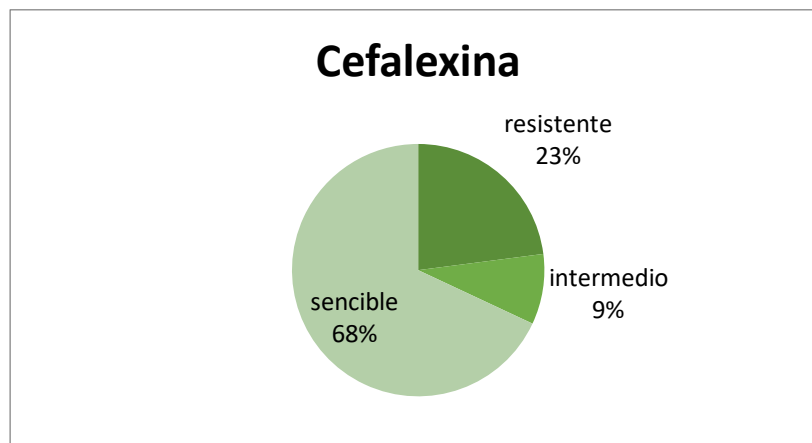
#### Anexo 2 Susceptibilidad a Tetraciclina

De acuerdo al análisis del antibiograma el 38,6% de las muestras son sensibles a tetraciclina: el 25% presentan susceptibilidad media y el 36.4% son resistentes



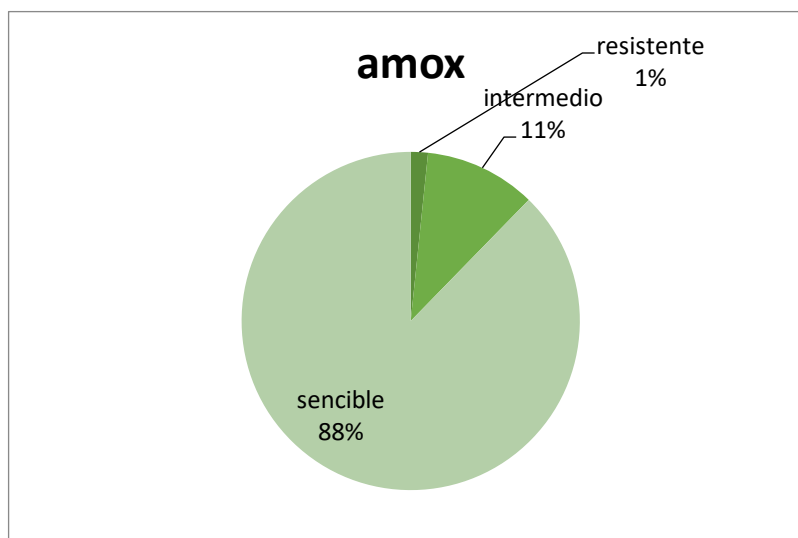
### Anexo 3 Susceptibilidad a Cefalexina

De acuerdo al análisis del antibiograma el 65,2% de las muestras son sensibles a Cefalexina: el 9,1% presentan susceptibilidad media y el 25,8% son resistentes.



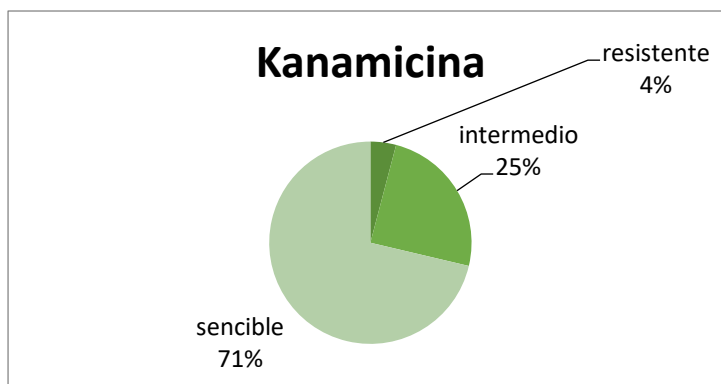
### Anexo 4 Susceptibilidad Amoxicilina + AC

De acuerdo al análisis del antibiograma el 87,1% de las muestras son sensibles a amoxicilina + ácido clavulánico: el 11,4% presentan susceptibilidad media y el 1,5% son resistentes.



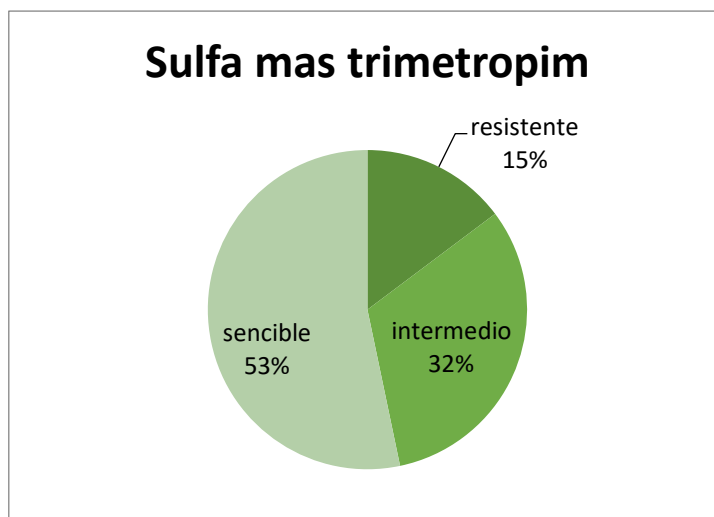
### Anexo 5 Susceptibilidad a Kanamicina

De acuerdo al análisis del antibiograma el 70,5% de las muestras son sensibles a Kanamicina: el 24,2 presentan susceptibilidad media y el 5,3% son resistentes



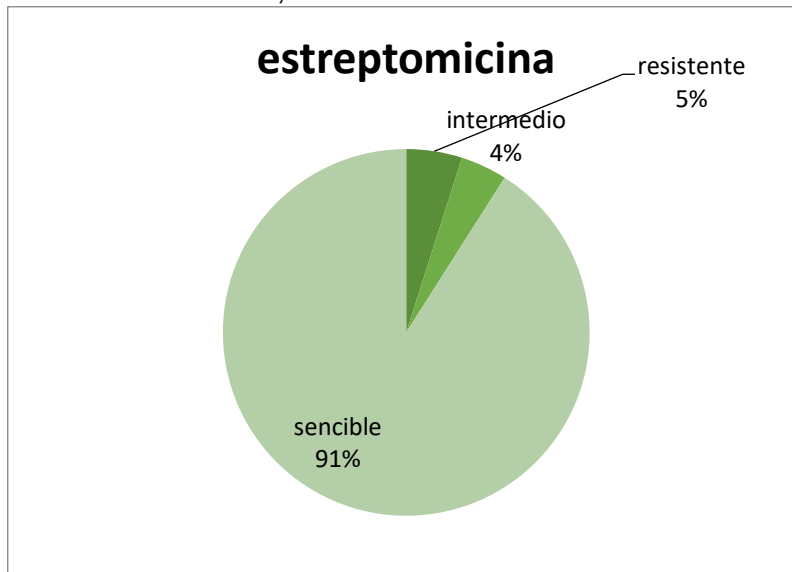
### Anexo 6 Susceptibilidad a Sulfa-trimetoprim

De acuerdo al análisis del antibiograma el 49,2% de las muestras son sensibles a Sulfa- trimetoprim: el 32,6% presentan susceptibilidad media y el 18,2% son resistentes.



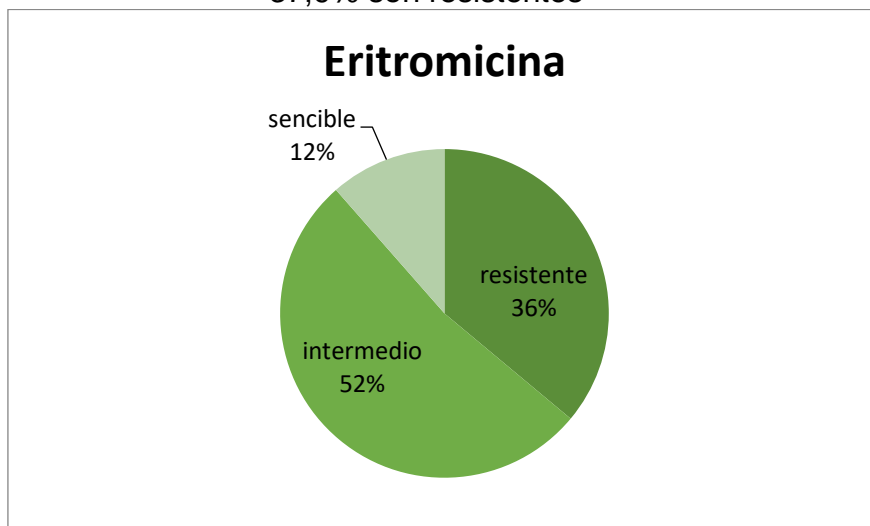
### Anexo 7 Susceptibilidad a Estreptomicina

De acuerdo al análisis del antibiograma el 90,2% de las muestras son sensibles a estreptomicina: el 3,8% presentan susceptibilidad media y el 6,1% son resistentes



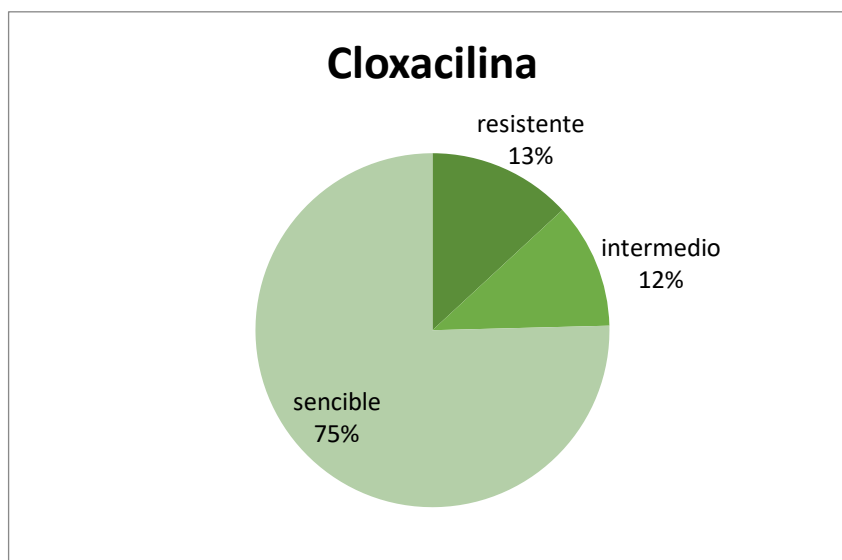
### Anexo 8 Susceptibilidad a Eritromicina

De acuerdo al análisis del antibiograma el 11,4% de las muestras son sensibles a eritromicina: el 50,8% presentan susceptibilidad media y el 37,9% son resistentes



### Anexo 9 Susceptibilidad a Cloxacilina

De acuerdo al análisis del antibiograma el 73,5% de las muestras son sensibles a cloxacilina: el 11,4% presentan susceptibilidad media y el 15,2% son resistentes



### Anexo 10

*Pruebas de Chi-cuadrado asociación entre susceptibilidad de penicilina y el número de lactancias*

	Valor	df	Significación asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	,985 <sup>a</sup>	2	,611
Razón de verosimilitud	1,009	2	,604
Asociación lineal por lineal	,199	1	,655
N de casos válidos	122		



**Anexo 11**

*Asociación de resistencia de antibióticos y periodo de lactancia pruebas de Chi-cuadrado*

	Valor	df	Significación asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	7,564 <sup>a</sup>	2	,023
Razón de verosimilitud	8,519	2	,014
Asociación lineal por lineal	6,205	1	,013
N de casos válidos	122		

**Anexo 12**

*Asociación entre resistencia antibiótica y número de lactancias, pruebas de Chi-cuadrado*

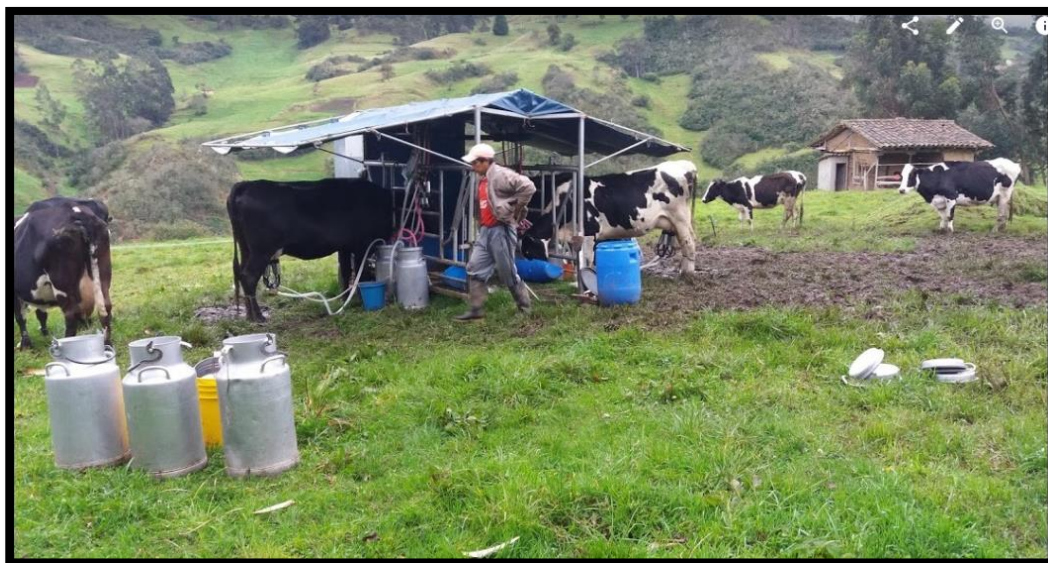
	Valor	df	Significación asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	5,023 <sup>a</sup>	2	,081
Razón de verosimilitud	7,400	2	,025
Asociación lineal por lineal	4,945	1	,026
N de casos válidos	122		

**Anexo 13**

*Prueba de Chi-cuadrado Asociación de resistencia bacteriana y manejo preventivo tabulación cruzada.*

	Valor	Gl	Sig. asintótica (2 caras)	Significación exacta (2 caras)	Significación exacta (1 cara)
Chi-cuadrado de Pearson	,601 <sup>a</sup>	1	,438		
Corrección de continuidad <sup>b</sup>	,185	1	,667		

## FOTOGRAFÍAS



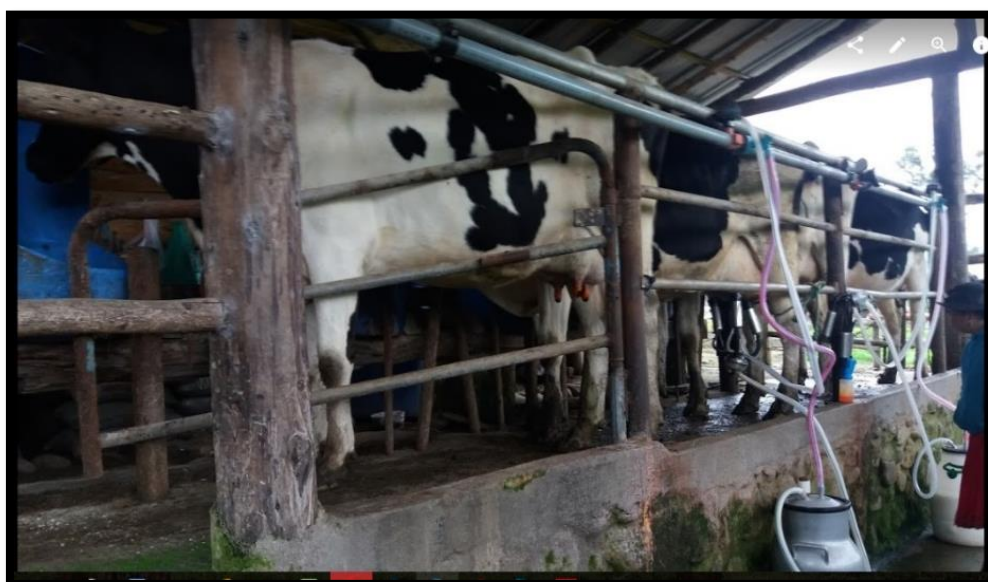
**Anexo 114** Primer día trabajo de campo Hacienda Washima.



**Anexo 15** Prueba de CMT detección de Mastitis



**Anexo 16** Toma de muestras Hacienda Rodeo Parroquia Jima



**Anexo 17** Recolección de muestras hacienda Dr. Byron Terán





**Anexo 18** Hacienda La Europea sector Tarqui.



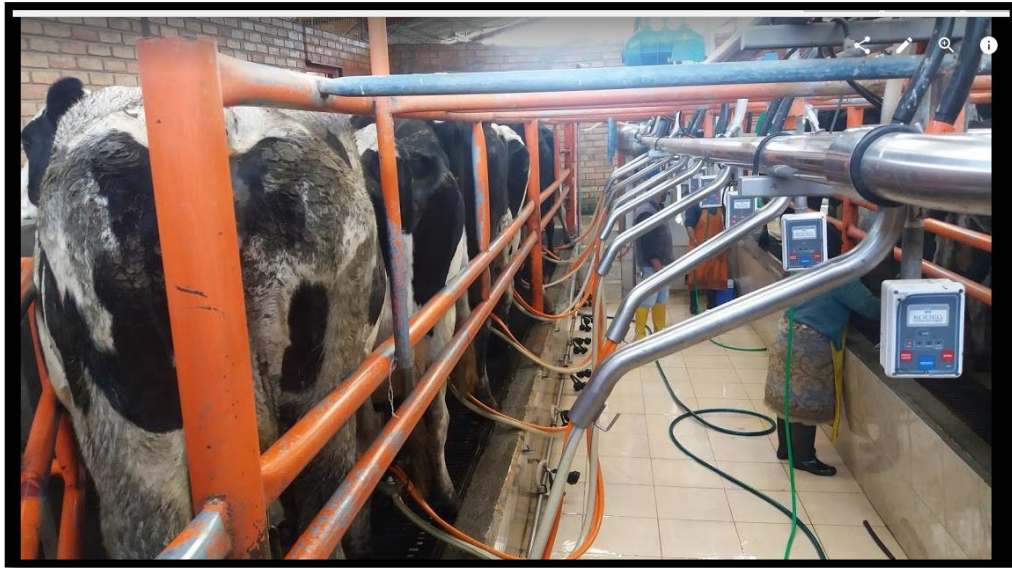
**Anexo 19** Muestra de leche de la Hacienda Sustac.



**Anexo 20** Hacienda Rosa de Oro sala de ordeño durante toma de muestras.



**Anexo 21** Sala de ordeño hacienda la Esmeralda previa toma de muestra.



**Anexo 22** Hacienda Los Álamos, vacas en ordeño; toma de muestras.



**Anexo 23** Hacienda "Europea" Sector Tutupali.





**Anexo 24** Granja Nero Universidad de Cuenca toma de muestras.

**Anexo 25** Formato de antibiograma laboratorio BIOMICROLAB CIA LTDA.


## BACTERIOLOGICO

Fecha: 09 de junio de 2016

Orden N°: 4174

Especie: Bovina

Propietario: TUTUPALI

Aplicación de: Sr. Diego Argudo

Muestra: Leche

Tinción de Gram: Coos Gram +

Germen aislado: *Staphylococcus aureus*

Identificación	PRUEBA DE SENSIBILIDAD								
	P	TE	K	CL	SXT	AMC	S	CX	E
338	R	R	I	S	S	S	S	S	R
27587	S	R	S	S	S	S	S	S	R
2458	S	R	S	S	S	S	S	S	R
10561	R	R	S	S	S	S	S	S	R
13533	S	R	S	S	I	S	S	S	R
2159	S	R	S	S	R	S	S	I	I
2130	S	I	S	S	I	S	S	S	I

(\*) Martillo clínico

Discos de sensibilidad

P: Penicilina

TE: Tetraciclina

K: Kanamicina

CL: Clotetraciclina

SXT: Sulfá + Trimetoprim

AMC: Amoxicilina + Clav

S: Streptomidina

CX: Cloxacilina

E: Eritromicina

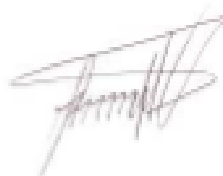
Resultados:

S: Sensible

I: Sensibilidad intermedia

R: Resistente

Estos resultados son válidos solo para las muestras analizadas  
y deben ser evaluados en su contexto clínico por un médico veterinario.



Dr. Jaime Maldonado R.



**Anexo 26** Formato de encuesta de manejo terapéutico y preventivo

Encuesta para Proyecto de tesis: **“Factores que afectan la Susceptibilidad antibiótica de *Staphylococcus aureus* aislado de mastitis bovina.**

Fecha-----

**GENERAL**

Nombre de Hacienda.....

Provincia..... Cantón..... Parroquia.....

Sector.....

Propietario.....

Extensión de predio:.....Ha

Nombre de Asesor Veterinario.....

Uso de laboratorio en decisiones terapéuticas: Si No

Uso de registros:

Trazabilidad: Si No

Productivo: Si No

Reproductivo: Si No

Sanitario (Mastitis): Si No

Uso de terapia de secado: Si No

Cuando se detectan causa de mastitis siempre se tratan con antibiótico.

Sí No

Al comprar un animal se realizan pruebas de selección para mastitis.

Sí No



**Cuenta con protocolo de tratamiento o manejo en caso de presentarse un caso de mastitis.    Sí    No**

**Existe alguna forma de identificar (marcar) vacas en tratamiento de mastitis.    Sí    No**

**ANIMALES.**

**Número de bovinos.....**

**Número de Vacas.....**

**Número de vacas en producción.....**

### PREGUNTAS CONOCIMIENTO DEL ASESOR GANADERO

1. Indique 4 diferencias entre mastitis clínica y subclínica.

Clinica	Subclínica

2. Usted aplica terapéutica dependiendo del periodo de producción.

Sí      No

3. Usted aplica terapéutica dependiendo de la edad de la vaca.

Sí      No

4. Usted aplica terapéutica dependiendo el número de partos.

Sí      No

**1. En mastitis causada por gram negativos escoja de la siguiente lista que fármacos usaría:**

- |  |                 |
|--|-----------------|
| ▪ Penicilina G                         | ▪ Sulfas        |
| ▪ Amoxicilina                          | ▪ Quinolonas    |
| ▪ Amoxicilina más ácido<br>clavulonico | ▪ Cefalexinas   |
|  | ▪ Tetraciclinas |

**2. En mastitis causada por gram positivos escoja de la siguiente lista que fármacos usaría:**

- |  |                 |
|--|-----------------|
| • Penicilina G                         | • Sulfas        |
| • Amoxicilina                          | • Quinolonas    |
| • Amoxicilina más<br>ácido clavulonico | • Cefalexinas   |
|  | • Tetraciclinas |

**3. Tratamiento mastitis clínica por cuantos días aplicaría el tratamiento.**

**4. Tratamiento mastitis sub-clínica por cuantos días aplicaría el tratamiento.**

**5. En caso de presentarse una mastitis subclínica en qué periodo aplicaría el tratamiento.**

- Producción
- Secado.